



Contribution à l'évaluation multicritère des systèmes de culture en protection intégrée contre les adventices : cas des émissions de protoxyde d'azote

Anthony Vermue

► To cite this version:

Anthony Vermue. Contribution à l'évaluation multicritère des systèmes de culture en protection intégrée contre les adventices : cas des émissions de protoxyde d'azote. Sciences de la Terre. Université de Bourgogne, 2014. Français. NNT : 2014DIJOS006 . tel-01212075

HAL Id: tel-01212075

<https://theses.hal.science/tel-01212075>

Submitted on 6 Oct 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE BOURGOGNE

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE BOURGOGNE

Discipline : Sciences de la terre - Spécialités : Agronomie - Agroécologie

Ecole Doctorale : Environnement – Santé (E-S)

par

Anthony VERMUE

le 24 février 2014

Contribution à l'évaluation multicritère des systèmes de culture en protection intégrée contre les adventices : Cas des émissions de protoxyde d'azote



Devant le Jury :

Daniel Wipf, Professeur (UMR Agroécologie, Université de Bourgogne), Président

Josette Garnier, Directrice de recherche (UMR Sisyphe, CNRS Paris 6), Rapporteur

Jean-Michel Harmand, Directeur de recherche (UMR Eco&Sols, CIRAD Montpellier), Rapporteur

Raia Massad, Chargée de recherche (UMR EGC, INRA Grignon), Examinatrice

Marie Sophie Petit, Ingénieure (Chambre Régionale d'Agriculture de Bourgogne), Examinatrice

Bernard Nicolardot, Professeur (UMR Agroécologie, AgroSup Dijon), Directeur de thèse

Catherine Hénault, Directrice de recherche (Unité de Science du Sol, INRA Orléans), Co-directrice

Résumé. Dans le cadre de l'évaluation multicritère des systèmes en protection intégrée contre les adventices (PIC-Adventices), cette étude a eu pour objectif d'étudier l'impact de la combinaison de pratiques alternatives à l'usage d'herbicides sur les émissions de N_2O par les sols. L'étude a été conduite sur quatre systèmes de culture, un système de référence en agriculture raisonnée (S1) et trois systèmes PIC-Adventices (S2, S3, S5), sur le site expérimental Dijon-Epoisses (47°20'N, 5°2'E). La mise en place de dispositifs de mesure à haute résolution, alliant la méthode des chambres d'accumulation de gaz en surface du sol aux analyses de gaz par infrarouge, a permis d'estimer l'intensité des émissions de N_2O pour les sols argilo-calcaires caractéristiques de la plaine dijonnaise, avec des flux moyens compris entre -6 et 257 g N- N_2O ha⁻¹ jour⁻¹. Cette intensité s'est avérée étroitement liée à certains paramètres environnementaux (température, part de porosité occupée par l'eau, teneur en azote), et certaines pratiques agricoles, induisant des différences significatives entre les systèmes. Les émissions de N_2O ont notamment été affectées par le mode de gestion des sols et la nature des cultures constituant la succession de chaque système. L'absence de travail du sol depuis 2008 dans le système S2 s'est traduite par une amplification des émissions de N_2O d'un facteur multiplicatif d'au moins six par rapport aux autres systèmes pour l'année 2012. Par ailleurs, ces émissions équivalentes à 0.7 t C- CO_2 ha⁻¹ pourraient avoir compensé la séquestration de carbone additionnelle induite par le travail réduit du sol pendant la période de mesure. De la même manière, la dégradation des résidus de culture légumineuse, dans les systèmes S3 et S5 ont respectivement stimulé les émissions de N_2O en 2011 et en 2012, en comparaison avec le système de référence S1. Par ailleurs, le suivi mensuel de la taille des communautés microbiennes du sol a également permis de mettre en évidence une variabilité temporelle liée aux pratiques culturales (travail du sol, récolte), en plus de la variabilité saisonnière. En revanche, dans cette étude les variations de taille des communautés microbiennes nitrifiantes et dénitrifiantes ne sont pas apparues comme un facteur d'explication de la variabilité des émissions de N_2O , quel que soit le système. Enfin, l'approche par la modélisation des émissions de N_2O sur les quatre systèmes, à l'aide des modèles NOE et DNDC, a permis d'identifier les principaux facteurs de régulation de ces émissions. De surcroît, le modèle NOE a bien identifié le système de culture S2, sans travail du sol, comme étant le système le plus émetteur de N_2O , conformément aux observations de terrain. Cette étude renforce donc la pertinence de la modélisation pour estimer et analyser les émissions de N_2O dans différents systèmes de culture.

Mots-clés. Système de culture, protection intégrée, sol, dénitrification, nitrification, Protoxyde d'azote, modélisation.

Abstract. In the context of the multicriteria evaluation of Integrated Weed Management (IWM) cropping systems, our study highlights the impacts of the combination of alternative agricultural practices to herbicide reliance on N₂O emissions from soils. The study was located at the INRA experimental site of Dijon-Epoisses (47 ° 20'N, 5 ° 2'E) and considered 4 cropping systems, a reference system designed to maximize financial returns (S1) and three IWM systems (S2, S3, S5). The setup of high resolution measuring devices, combining the non-steady state chamber method with infrared gas analysis, allowed to estimate the intensity of N₂O emissions from the calcareous clay soil, which is specific of Dijon plain, with average fluxes laying between -6 and 257 g N₂O-N ha⁻¹ day⁻¹. The intensity of fluxes was closely related to environmental parameters (temperature, water filled pore space, inorganic N amount) and particular agricultural practices, leading to significant differences between systems. N₂O emissions were notably affected by soil management and nature of crops. The conversion of S2 system to no-till in 2008 increased the N₂O emissions, fluxes being at least 6 times more important than those emitted by the other cropping systems, during the year 2012. Moreover, these emissions, equivalent to 0.7 ha⁻¹ C-CO₂ ha⁻¹, could have offset the soil additional carbon sequestration induced by reduced tillage during the studying period. Similarly, the degradation of legume crop residues in the S3 and S5 systems respectively enhanced N₂O emissions in 2011 and 2012, by comparison with the S1 reference system. Elsewhere, the monthly monitoring of the soil microbial communities sizes has also helped to highlight temporal variability induced by the agricultural practices (tillage, harvest) as well as the seasonal variability. However, in this study the fluctuations of nitrifying and denitrifying communities sizes observed did not explain the variability of N₂O emissions, whatever the considered cropping system. Finally, the modeling of N₂O emitted from the 4 cropping systems, using NOE and DNDC models, allowed to identify the mains factors regulating the emissions. In addition, the NOE model accurately identified the S2 system, without tillage, as the most N₂O emitter, in accordance with field observations. Thus, our study reinforces the relevance of modeling to estimate and explain N₂O emissions in different cropping systems.

Keywords. Cropping system, integrated weed management (IWM), soil, denitrification, nitrification, Nitrous oxide, modeling.

À mes directeurs

Bernard Nicolardot

Que dire. Merci d'avoir proposé ce sujet de thèse et de m'avoir donné ma chance pour la mener à bien. Dès que j'avais la moindre interrogation, tu as toujours su te montrer disponible pour y répondre, et toujours en toute franchise. Tu as également été là pour me hâter lorsque j'en avais besoin, sans quoi je ne serai peut-être pas en train d'écrire ces mots en ce moment.

Catherine Hénault

Si j'en suis là aujourd'hui, tu y es certainement pour beaucoup. C'est d'abord grâce à toi que j'ai découvert et apprécié le milieu de la recherche. Tu m'as donné ma chance lors de mon stage de Master 1 et j'ai depuis beaucoup appris de tes conseils. En Master 2, j'ai eu, grâce à toi, l'occasion rêvée d'effectuer un stage en Guyane française, rempli de rencontres enrichissantes et de paysages magnifiques. Encore aujourd'hui et malgré la distance, tu as su m'aider efficacement. Bref. Je ne t'en remercierai jamais assez.

Aux membres de mon comité de pilotage de thèse

Bruno Mary, Olivier Mathieu, Nicolas Munier-Jolain, Patricia Laville, Laurent Philippot et Xavier Reboud, merci pour vos précieux conseils votre soutien au cours de ces deux réunions prolifiques.

Aux rapporteurs et membres du jury

Je remercie les rapporteurs, Jean-Michel Harmand et Josette Garnier, d'avoir accepté d'évaluer ce document, ainsi que Daniel Wipf, Raia Massad et Marie-Sophie Petit d'avoir accepté de faire partie du jury.

Au Conseil Régional de Bourgogne

Que je remercie pour m'avoir permis de réaliser cette thèse, en la finançant intégralement. Vive la Bourgogne !

A l'ANR

Pour avoir financé une partie du fonctionnement et des travaux de ma thèse.

À tous mes collègues de feu l'unité « Biologie et Gestion des Adventices » et de la nouvelle unité « Agroécologie »

Et en particulier à Arnaud Coffin, merci pour tout le travail que tu as accompli, tant dans la conception du dispositif expérimental que dans son suivi pendant ces trois ans. Merci également pour ton aide sur le terrain, que tu m'as toujours apportée avec enthousiasme et humour, malgré des situations parfois délicates. Je te dois en grand partie mon doctorat. Une belle Victoire.

Florian Bizouard, merci de toujours avoir su te montrer très disponible dès qu'il était question d'aller sur le terrain et ce depuis mon stage de Master 1. Merci pour m'avoir accompagné tant de fois sur le site expérimental, et presque autant de fois pour m'avoir fait vérifier que je n'avais rien oublié.

David Bru, pour son travail sur les communautés microbiennes.

Au personnel du Domaine expérimental de l'INRA d'Epoisses à Bretenière, pour avoir assuré la gestion des systèmes de culture en protection intégrée et avoir donné des coups de main lorsqu'il le fallait.

Les secrétaires, Claudine et Sandrine, merci d'avoir tout fait pour simplifier ma vie de PEPS à l'INRA, et toujours de bon cœur.

Sébastien, je te remercie pour tes bons mots, ainsi que pour les nombreux bons moments passés ensemble, que ce soit en pause-café, devant des mots-fléchés, au « Beer-Time » et au Cappuccino.

Émilie, je te remercie pour tous les cafés que tu m'as préparé durant ces trois ans, et d'une manière générale d'avoir su animer à ta façon ce grand bureau, qui sans ça, m'aurait souvent paru bien vide.

Delphine, je te remercie pour tous les précieux conseils que tu m'as donnés sur la façon de conduire ma thèse, et pour tous les fous rires que tu as provoqués pendant la tienne.

Martin, je te remercie d'abord pour avoir su répondre à mes nombreuses interrogations, toujours avec clarté et enthousiasme. Mais je te remercie également pour l'ambiance que tu as su instaurer depuis ton arrivée à l'INRA.

Au personnel de l'UR Sol d'Orléans, et plus particulièrement à **Antoine Chaintreuil** et **Adeline Besnault** pour leur aide sur le terrain et au laboratoire.

À ma famille

Qui a toujours été derrière moi pour m'encourager et me soutenir dans mes études. Vous avez toujours été là en cas de besoin, prêt à faire des kilomètres, que ce soit lorsque j'avais des soucis ou lorsque qu'un ami perdait mes clés de voiture en plein festival. Merci de m'avoir permis de développer mon attrait pour la science et la nature depuis mon plus jeune âge. C'est grâce à vous si j'en suis là aujourd'hui.

A mes enseignants et professeurs.

Du collège Jacques Prévert (Migennes) et du lycée Louis Davier (Joigny) qui m'ont donné l'envie de poursuivre mes études.

De l'Université de Bourgogne, qui m'ont parfois donné l'envie de tout arrêter. Plus sérieusement, un grand merci à Jean Lévêque, qui m'a très justement conseillé de chercher un stage dans le milieu de la recherche à l'INRA. Je remercie également, encore une fois, Olivier Mathieu qui m'a

fait découvrir la thématique sur laquelle j'ai travaillé durant ces trois ans. Ainsi que tous les autres qui ont contribué à ma formation.

À mes amis

Je pense notamment à toi **Mathieu**, mon doctorat a été une aventure d'autant plus sympathique que tu l'as vécu en parallèle à quelques centaines de mètres. J'aurai toujours plaisir à aller boire une masse de mandubienne avec toi un lundi soir au Cappuccino. Et à **Élo**, sur qui j'ai toujours pu compter et qui, accessoirement, me doit toujours une tarte aux noix.

Merci à toi, **Marc** de m'avoir hébergé pendant mes travaux à Orléans. Avec **Pierrick**, **Jérémy**, **Bilou** et toi, j'ai pu me changer les idées.

Merci à **Clément**, **Nono** et **Fiston** pour votre amitié. Merci également à **Tyybot**, de m'avoir supporté pendant ces 1 an de collocation et d'avoir partagé ma passion patato-fromagère. De manière plus générale, merci à mes anciens colocataires: Tyybot, Sonia et Ben. Merci à tous les membres de l'Association des Étudiants et des Anciens Étudiants en Géologie de l'Université de Bourgogne, pour toutes les soirées, les parties de cartes et, plus globalement, tous les bons moments passés ensemble.

Et enfin à mon amie, Jeanne

Tu m'auras été d'un grand soutien et d'une grande aide sur cette fin de thèse. Tes conseils et ta patience m'ont aidé à prendre le recul nécessaire lorsque je me perdais dans des détails. Plus encore, ta compagnie m'apporte énormément au quotidien et me permet d'avancer plus sereinement. Maintenant, j'espère pouvoir te rendre la pareille et être là pour t'accompagner jusqu'à la fin de ta thèse. Thèse, qui m'aura au final apporté bien plus qu'un diplôme.

Table des matières

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction Générale & Objectifs	
I. Contexte général de l'étude	1
II. Objectifs de l'étude.....	3
Chapitre I.....	
I.1. Problématique de la lutte contre les bioagresseurs	5
I.1.1. Des besoins alimentaires croissants	5
I.1.2. Vers une agriculture durable	6
I.1.3. Qu'est-ce que la protection intégrée des cultures ?	7
I.1.4. Cas de la protection intégrée contre les adventices	8
I.1.5. Les leviers agronomiques pour lutter contre les adventices	8
I.2. Problématique des émissions de N ₂ O	11
I.2.1. Pourquoi s'intéresser aux effets secondaires sur les émissions de N ₂ O?.....	11
I.2.2. Quelles sont les sources des émissions de N ₂ O?	12
I.2.3. Quels sont les mécanismes à l'origine des émissions de N ₂ O par les sols?	14
I.2.4. Quels sont les facteurs de régulation de l'intensité des émissions de N ₂ O par nitrification et dénitrification dans les sols?.....	19
I.2.5. Quelles sont les méthodes disponibles pour estimer ces émissions de N ₂ O par les sols?	27
I.2.6. Prédiction des émissions de N ₂ O par les sols agricoles.....	31
Chapitre II	
II.1. Site expérimental	34
II.1.1. L'essai PIC-Adventices	34
II.1.2. Les systèmes de culture mis en place	34
II.1.3. Préparation à la mise en place des dispositifs de mesure	36
II.1.4. Caractérisation des sols de la zone d'étude – îlot A	37
II.2. Dispositif de mesures automatisées	38
II.2.1. Coffrets de commande et de mesure.....	38
II.2.2. Capteurs d'humidité et de température.....	38
II.2.3. Chambre de mesure automatisée	39
II.2.4. Analyseurs N ₂ O	40
II.3. Données climatiques.....	41
II.4. Mesure effectuées en laboratoire	41

II.4.1. Densité apparente	41
II.4.2. Suivi des teneurs en azote minéral du sol.....	41
II.4.3. Abondance des gènes impliqués dans les émissions de N ₂ O	42
II.4.4. Potentiels d'activité microbienne	42
II.5. Modélisation	46
II.5.1. Le modèle DNDC (DeNitrification-DeComposition)	46
II.5.2. Le modèle NOE (Nitrous Oxide Emissions)	46
Chapitre III	
III.1. Introduction	50
III.2.1. Experimental site and design.....	51
III.2.2. Soil physical and chemical characteristics	54
III.2.3. Soil inorganic N content.....	54
III.2.4. Soil bulk density	55
III.2.5. Soil temperature, volumetric moisture and water filled pore space	55
III.2.6. N ₂ O emissions	56
III.2.7. Statistical analysis	56
III.3. Results	56
III.3.1. Site climatic conditions	56
III.3.2. Soil temperature	57
III.3.3. Soil inorganic N contents	57
III.3.4. Soil bulk density and water filled pore space.....	57
III.3.5. N ₂ O emissions	58
III.4. Discussion	63
III.4.1. N ₂ O emissions dynamics.....	63
III.4.2. Impacts of agricultural practices	64
III.5. Conclusions	66
Chapitre IV	
IV.1. Introduction.....	69
IV.2. Materials and methods	70
IV.2.1. Site and experimental design	70
IV.2.2. N ₂ O emissions.....	72
IV.2.3. Soil inorganic N and moisture	72
IV.2.4. DNA extraction	73
IV.2.5. Quantification of microbial communities	73
IV.2.6. Statistical analysis	74
IV.3. Results.....	74

IV.3.1. Climatic conditions and soil moisture.....	74
IV.3.2. Soil inorganic N	76
IV.3.3. Dynamics of N ₂ O emissions	77
IV.3.4. Abundances of N-cycling microbial communities.....	79
IV.4. Discussion	82
IV.4.1. Determinism of the N ₂ O emissions.....	82
IV.4.2. Impacts of integrated weed management system on N ₂ O emissions.....	83
IV.4.3. Dynamics of microbial abundances and processes	84
IV.4.4. Relationships between N-cycling communities and N ₂ O emissions	86
Chapitre V	
V.1. Introduction	90
V.2. Materials and methods.....	91
V.2.1. NOE and DNDC models	91
V.2.2. Experimental data.....	92
V.2.3. Models parameterization	92
V.2.4. Statistical criteria	94
V.3. Results & discussion	94
V.3.1. Performance of the models.....	94
V.3.2. Analyzing N ₂ O emissions determinism with models.....	100
V.4. Conclusions	102
Références bibliographiques	110

Liste des figures

I.1 Augmentation de la production agricole depuis 1960 (FAOSTAT in Godfray <i>et al.</i> , 2010).....	5
I.2 Pratiques alternatives de lutte contre les adventices (Attoumani-Ronceux <i>et al.</i> , 2011).	9
I.3 Augmentation de la concentration atmosphérique du N ₂ O (UNEP, 2013).....	11
I.4 Emissions actuelles et prévisionnelles de N ₂ O et de CFCs pondérées par le potentiel d'appauvrissement de la couche d'ozone des gaz (UNEP, 2013).	12
I.5 Principales sources d'émissions de N ₂ O dans le monde (gauche) et détail des émissions anthropiques (droite) en 2005 (UNEP, 2013).....	13
I.6 Répartition des émissions de N ₂ O en France en 1990 (à gauche) et en 2008 (à droite) (CITEPA, 2013).	13
I.7 Processus chimiques et biologiques contribuant aux émissions de N ₂ O (Butterbach-Bahl <i>et al.</i> , 2013).....	14
I.8 Emissions de N ₂ O par nitrification. Les crochets indiquent le degré d'oxydation des composés azotés.....	16
I.9 Emissions de N ₂ O par dénitrification <i>sensu stricto</i> . Les crochets indiquent le degré d'oxydation des composés azotés.....	16
I.10 Cycle de l'azote dans le sol. (Robertson et Groffman, 2007).	19
I.11 Contrôle de la nitrification (d'après Robertson, 1989 in Mathieu, 2005).	20
I.12 Contrôle de la dénitrification (d'après Robertson, 1989 in Mathieu, 2005).....	20
I.13 Activité nitrifiante et dénitrifiante en fonction de la part de porosité occupée par l'eau (d'après Linn et Doran, 1984).	22
I.14 Effet de la part de porosité occupée par l'eau sur les émissions de N ₂ O par les sols de quatre systèmes de culture (d'après Schaufler <i>et al.</i> , 2010).....	23
I.15 Emissions de N ₂ O sur des parcelles cultivées avec labour (CT) et sans labour (NT) durant deux périodes (Oorts <i>et al.</i> , 2007).	23
I.16 Pourcentage d'émissions de N ₂ O dérivant de la fertilisation azotée sur 4 systèmes en 2000. La date de fertilisation est représentée par la flèche (Baggs <i>et al.</i> , 2003).....	24
I.17 Effet de l'apport de résidu de culture sur les émissions de N ₂ O en fonction de leur ratio C/N. Le nombre de valeurs est indiqué entre parenthèses (d'après Chen <i>et al.</i> , 2013).	25
I.18 Effet de la température sur les émissions de N ₂ O par les sols de quatre systèmes de culture (d'après Schaufler <i>et al.</i> , 2010).	26
I.19 Estimation de l'activité nitrifiante potentielle après un traitement fongicide au penconazole et cyprodinil (Puglisi <i>et al.</i> , 2012).....	27
I.20 Chambre au sol de type système fermé (d'après Parkin et Venterea, 2010).	28
I.21 Chambre au sol de type système ouvert (d'après Pape <i>et al.</i> , 2009).	29
I.22 Exemple de dispositif de mesure micrométéorologique du N ₂ O (Crédit photographique : Mike Harvey).....	30
I.23 Comparaison de mesures de flux de N ₂ O par la méthode des chambres au sol et la méthode micrométéorologique (Laville <i>et al.</i> , 1999).....	31
II.1 Vue aérienne des îlots A et D du site expérimental INRA Dijon-Epoisses.	35
II.2 Dates de mise en place des coffrets dans la bande enherbée entre les systèmes S1-S3 et S2-S5 de l'îlot A.	37
II.3 Coffret électrique mis en place dans la bande enherbée.	38
II.4 Disposition type des sondes TDR (blanc) et température (gris).	38
II.5 Chambre de mesure automatisée.	39
II.6 Disposition type des chambres de mesure à l'intérieur du système S1.	39

II.7 Cinétique des concentrations en N ₂ O sur 20 minutes.....	40
II.8 Prélèvement des cylindres (gauche) et système de percolation au goutte à goutte de la solution de KNO ₃ schématique (centre) et réel (droite).	42
II.9 Varian® Star 3400CX couplé à un préleveur automatique	44
II.10 Exemple d'une fiole de 500 ml pendant l'incubation (1) et de fioles sous vide permettant le prélèvement des échantillons gazeux (2).	44
III.1 Evolution of the soil temperature, soil inorganic N, water filled pore space and N ₂ O emissions for the reference system S1.	59
III.2 Evolution of the soil temperature, soil inorganic N, water filled pore space and N ₂ O emissions for S2 IWM system.....	60
III.3 Evolution of the soil temperature, soil inorganic N, water filled pore space and N ₂ O emissions for S3 IWM system.....	61
III.4 Evolution of the soil temperature, soil inorganic N, water filled pore space and N ₂ O emissions for S5 IWM system.....	62
IV.1 Daily (bars) and monthly (continuous or dotted horizontal lines) rainfall and daily temperature over the measurement period compared to the 10-year means calculated for a comparable period April to November and the same location.....	75
IV.2 Water filled pore space (WFPS) in the 0-30 cm soil layer during the measurement period for systems (S1 reference) and S3 (IWM).....	75
IV.3 Ammonium and nitrate contents in the 0-10 cm and 10-30 cm soil layers for systems (S1 reference) and S3 (IWM).	76
IV.4 N ₂ O emissions for systems S1 (reference) and S3 (IWM). Error bars correspond to standard errors of the mean (n = 6) (displayed only when > 1 g N-N ₂ O ha ⁻¹ day ⁻¹).....	77
IV.5 Abundances of 16S bacterial and archaeal genes in the 0-10 cm and 10-30 cm soil layers of systems S1 (reference) and S3 (IWM).....	79
IV.6 Abundances of AOA and AOB genes in the 0-10 cm and 10-30 cm soil layers of systems S1 (reference) and S3 (IWM).....	80
IV.7 Abundances of nirK, nirS and nosZ genes in the 0-10 cm and 10-30 cm soil layers of systems S1 (reference) and S3 (IWM).....	80
V.1 Comparison between observed and simulated N ₂ O emissions for S1, S2, S3 and S5 systems using NOE and DNDC models.....	97
V.2 Confrontation between observed and simulated N ₂ O emissions using NOE (left) or DNDC (right) models. In each graph, the line correspond to y = x.....	98

Liste des tableaux

I.1 Effets attendus des principales pratiques agronomiques rencontrées en protection intégrée contre les adventices (d'après Anonyme, 2013).	9
I.2 Effets secondaires des pratiques agricoles fréquemment utilisées en protection intégrée contre les adventices (d'après Anonyme, 2009).	10
I.3 Comparaison entre simulations de flux de N ₂ O par différents modèles (kg N ₂ O-N ha ⁻¹ an ⁻¹) (d'après Frolking <i>et al.</i> 1998).	33
II.1 Spécificités des systèmes de culture de l'essai PIC-adventices.	35
II.2 Teneur en carbone dans l'horizon 0-30 cm des sols des quatre systèmes de culture.	37
II.3 Récapitulatif des conditions d'incubation.	45
III.1 Main characteristics of the 4 studied cropping systems.	51
III.2 Mean cultural operations for the 4 studied systems from autumn 2012 to spring 2013.	53
III.3 Soil characteristics of the 0-30 cm soil layer for the 4 studied cropping systems.	54
III.4 Cumulated N ₂ O emissions for the 4 studied cropping systems expressed in g N-N ₂ O ha ⁻¹ and in equivalent carbon dioxide kg C-CO ₂ ha ⁻¹	58
IV.1 Main soil characteristics for reference (S1) and IWM (S3) systems.	70
IV.2 Mean cultural operations for S1 and S3 systems between rapeseed seedling in 2010 and winter wheat seedling in 2011.	71
IV.3 Cumulative N ₂ O emissions for S1 and S3 systems (g N-N ₂ O ha ⁻¹).	78
IV.4 Analysis of variance and effect sizes for the factors and their interactions on the abundance of different studied microbial communities.	81
V.1 Denitrification potential and R _{max} measured for each system.	93
V.2 Soil initial parameters used in DNDC.	93
V.3 Statistical assessment of the environmental parameters simulated with DNDC for the 0-30 cm soil layer of each system in comparison observed data.	95
V.4 Statistical assessment of N ₂ O simulations with NOE and DNDC in comparison with observed N ₂ O emissions and published data.	99
V.5 Pearson correlation (r) between simulated N ₂ O emissions with NOE and functions rendering temperature (F _T), nitrate (F _N) and water (F _W) effects, and average observed values.	100
V.6 Comparison between cumulated observed and simulated N ₂ O emissions (g N-N ₂ O ha ⁻¹) with NOE and DNDC models with Dunn groups (P < 0.05).	101

Introduction Générale

&

Objectifs

I. Contexte général de l'étude

L'agriculture s'est intensifiée ces dernières décennies (Matson *et al.*, 1997), répondant à des besoins alimentaires croissants (Godfray *et al.*, 2010). Le développement des pesticides dans les années 50 a permis d'augmenter considérablement les productions végétales en luttant contre les ravageurs des cultures, à surface égale. Cependant, cette intensification a conduit à une dégradation de la qualité de l'environnement (Foley *et al.*, 2011), à une perturbation des écosystèmes (Stoate *et al.*, 2001) et des étapes des cycles biogéochimiques dans les sols. La forte pression exercée par l'usage des pesticides a entraîné le déclin de certaines espèces (Stoate *et al.*, 2001; Fried, 2009). En parallèle, ces fortes pressions ont engendré une sélection sans précédent des individus les plus résistants chez les insectes (Georghiou et Lagunes-Tejada, 1991), les champignons (Smith, 1988) puis les plantes (Prather *et al.* 2000). Certaines plantes apparaissent aujourd'hui protégées contre l'action de tous les herbicides existant sur le marché, sans la possibilité d'en créer de nouveaux actuellement (Ruëgg *et al.*, 2007).

Dans le même temps, les apports d'azote répétés sur les sols cultivés ont conduit à des pertes accrues d'azote en direction de tous les milieux (Vitousek *et al.*, 1997; Matson *et al.*, 1997). Les flux de nitrates dissous notamment, ont entraîné l'eutrophisation et l'acidification des eaux de surface, au détriment de la biodiversité (Vitousek *et al.*, 1997).

Face à ces constats alarmants (Foley *et al.*, 2011), de multiples décisions publiques (Grenelle de l'environnement 2009 puis 2010, plan Ecophyto 2018 puis Ecophyto) ont fixé de nouveaux objectifs pour l'agriculture, visant à réduire son empreinte sur l'environnement. Cependant la sécurité alimentaire reste l'un des challenges clés de ce siècle (Anonyme, 2009) et il devient alors nécessaire de promouvoir d'autres moyens agronomiques permettant à la fois de gérer les adventices et de réduire les recours aux herbicides de synthèse.

La protection intégrée des cultures représente une alternative plausible afin de répondre à ces nouveaux objectifs (Chen *et al.*, 2011). Témoignage d'un changement de mentalité et de perception des nuisances (Petit *et al.*, 2010), des formes de protection intégrée sont déjà adoptées par les agriculteurs (Bailey *et al.*, 2009). Malgré une apparente complexité (Ehler, 2006), la protection intégrée peut s'avérer une alternative rentable (Smith *et al.*, 2006) et efficace dans la lutte contre les bioagresseurs (adventices, champignons, insectes, maladies) (Buhler *et al.*, 1992; Chikowo *et al.*, 2009). Il apparait en effet possible de réduire les recours aux produits organiques de synthèse, en combinant les effets partiels de différentes pratiques agronomiques (Attoumani-Ronceux *et al.*, 2011).

Cependant, la transition vers la protection intégrée représente une rupture avec les pratiques agricoles conventionnelles (Ferron et Deguine, 2005). L'introduction de pratiques agronomiques alternatives est également susceptible de présenter des risques pour l'environnement, notamment des émissions de protoxyde d'azote (N₂O) accrues (Anonyme, 2009). L'activité microbienne à l'origine de ces émissions est très sensible aux conditions des sols (Weier *et al.*, 1993) et peut facilement être altéré suite aux pratiques agricoles (Hénault *et al.*, 1998, Skiba et Smith, 2000). Or, les sols cultivés représentent la première source anthropique des émissions de N₂O, puissant gaz à effet de serre. Ces émissions contribuent donc au dérèglement climatique (IPCC, 2007) et par ailleurs à la destruction de l'ozone stratosphérique (Ravishankara *et al.*, 2009).

L'effort dans la réduction des recours à la lutte chimique ne doit pas créer d'autres sources de nuisances, sans quoi la durabilité de ces systèmes seraient remise en cause. L'évaluation de ces systèmes requiert donc la prise en compte des critères économiques, sociaux, mais également environnementaux (Swanton et Weise, 1991; Sadok *et al.*, 2009). Le travail présenté ici constitue une contribution à l'évaluation multicritère de ces nouveaux systèmes de culture en s'intéressant aux émissions de protoxyde d'azote émis par les sols et induits par la mise en place de pratiques alternatives à l'usage d'herbicides.

II. Objectifs de l'étude

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer si les pratiques culturales mises en place dans le cadre de la protection intégrée contre les adventices dans les systèmes de culture peuvent modifier la dynamique et surtout l'intensité des émissions de N_2O et constituer ainsi un effet « trade-off »¹ en regard de la diminution de la pression en herbicides des systèmes de culture proposés. Afin d'y répondre, ce travail de thèse s'articule autour de trois axes de recherches.

- ❖ **Axe 1.** Il s'est agi dans un premier temps d'évaluer l'intensité des émissions de N_2O pour 4 systèmes de culture en protection intégrée contre la flore adventice en comparaison avec un système de culture de référence en agriculture raisonnée et de hiérarchiser les effets des différentes pratiques culturales introduites dans ces systèmes innovants. Cela a nécessité le suivi sur plusieurs mois des flux de N_2O émis par les sols, des paramètres physicochimiques des sols (densité apparente, teneur en azote minéral, température, humidité volumique) et des conditions climatiques (pluviométrie, température). La constitution d'une base de données doit alors nous permettre d'estimer si les pratiques culturales alternatives introduites avec la protection intégrée influencent ou non les émissions de N_2O ;
- ❖ **Axe 2.** Dans un second temps, nous avons cherché à caractériser simultanément l'impact des pratiques culturales introduites dans le cadre de la protection intégrée contre les adventices sur les communautés microbiennes du sol et les émissions de N_2O . Ce travail devait nous conduire à établir des liens entre les émissions de N_2O par les sols et la taille des communautés impliquées dans sa production dans les sols. Pour cela, l'abondance de gènes spécifiques dans le sol a été mesurée mensuellement, durant 7 mois dans un système en protection intégrée contre les adventices et le système de culture de référence. L'acquisition de ces données doit ensuite permettre d'identifier les principaux facteurs de régulation de ces abondances et de confronter leurs variations à celles des émissions de N_2O mesurées en parallèle ;

¹ S'il s'avère que les techniques permettant de réduire l'usage des herbicides favorisent les émissions de N_2O , il faudra trouver un compromis entre ces 2 aspects environnementaux (possible effet « trade-off » des émissions de N_2O vis-à-vis de la réduction de l'usage des herbicides).

❖ **Axe 3.** Enfin, un dernier volet devait nous permettre d'évaluer si les émissions de N₂O observées sur le site expérimental de Bretenièrre pouvaient être restituées par des simulations réalisées au moyen de modèles décrivant la production de N₂O par les sols. Nous avons donc entrepris ce travail de modélisation au moyen de 2 modèles, NOE (Hénault *et al.*, 2005) et DNDC (Li *et al.*, 1992), ce qui nous a par ailleurs permis d'évaluer leur capacité à restituer les émissions observées. *In fine*, les résultats obtenus doivent permettre de statuer sur la capacité de ces modèles pour pouvoir servir d'outil d'analyse pour comprendre les émissions de N₂O et identifier leurs principaux facteurs de régulation et éventuellement être ainsi utilisés en tant qu'outils de simulation lors de l'étude de différents scénarios agronomiques ou d'études prenant en compte des échelles de temps et d'espace variées ;

❖ **Grille de lecture du document.**

Ce document est construit autour de ces trois axes de recherche, faisant chacun l'objet d'un article scientifique publié, soumis ou en préparation. La présentation du travail expérimental est tout d'abord précédée d'une synthèse bibliographique (**Chapitre I**) faisant l'état des connaissances sur les différents concepts et processus abordés dans notre travail, suivie d'une présentation du dispositif expérimental (**Chapitre II**), des outils analytiques et des méthodes mises en œuvre sur le terrain. L'axe 1 fait l'objet d'un article soumis à la revue Soil Tillage Research et correspond au **Chapitre III**. L'axe 2 fait l'objet d'un article publié dans la revue Plant and Soil et correspond au **Chapitre IV**. Enfin l'axe 3, qui correspond au **Chapitre V**, est un projet de publication qui sera soumis ultérieurement. Enfin, le document se termine par une conclusion générale qui reprend les principaux résultats de notre travail et s'ouvre sur des perspectives en matière de poursuite des travaux scientifiques engagés au cours de cette thèse.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

Il s'agit ici de faire état des connaissances actuelles et nécessaires à la compréhension de cette étude, sur les possibles interactions entre la protection intégrée des systèmes de culture et les émissions de N₂O par les sols cultivés.

I.1. Problématique de la lutte contre les bioagresseurs

I.1.1. Des besoins alimentaires croissants

L'accroissement démographique prévu pour les 30 prochaines années par l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) va entraîner une hausse des besoins alimentaires. L'intensification de l'agriculture a permis d'atteindre une certaine sécurité alimentaire : la croissance marquée de la production alimentaire depuis les années 60 (Fig. I.1) a permis une diminution de la proportion de la population du monde qui souffre de la faim, malgré un doublement de la population totale (Godfray *et al.*, 2010).

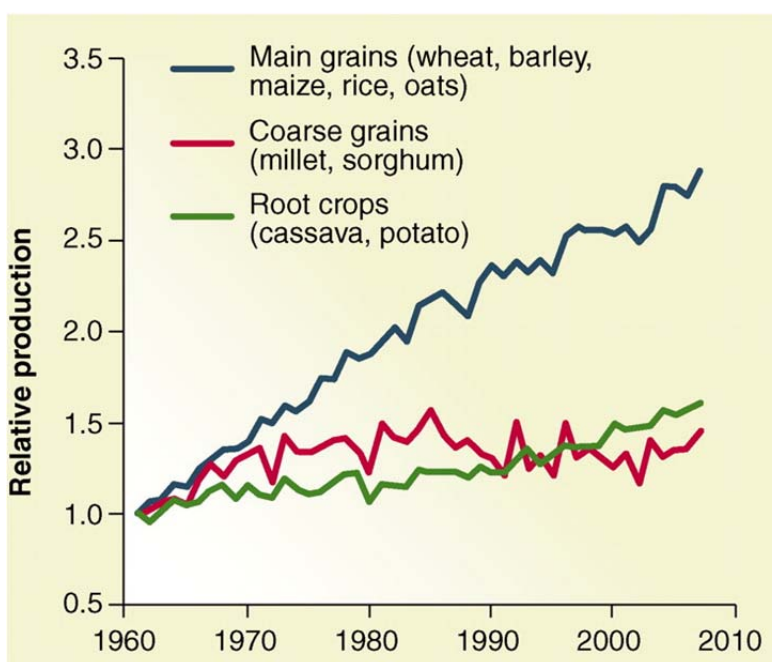


Figure I.1 : Augmentation de la production agricole depuis 1960
(FAOSTAT in Godfray *et al.*, 2010).

Cependant, une personne sur 7 aujourd'hui n'a toujours pas accès à suffisamment de nourriture (Godfray *et al.*, 2010) et la population ne cesse d'augmenter. La sécurité alimentaire reste donc l'un des challenges clés de ce siècle (Anonyme, 2009). Dans le passé, cette sécurité alimentaire a été améliorée par le développement, dans les années 50, de produits organiques de synthèse, appelés pesticides, qui ont permis de stabiliser et

d'augmenter considérablement les rendements en luttant contre les ravageurs des cultures (adventices, pathogènes...). Ces produits sont d'une part très efficaces et ont d'autre part permis de réduire de manière drastique le temps de travail (le gros de la main d'œuvre était jadis alloué au désherbage). Les pesticides sont de plus économiquement intéressants : en moyenne, leur application peut rapporter plus de 6 fois leur coût d'achat et application pour l'agriculteur aux États-Unis (Popp *et al.*, 2013). Les avantages conférés par ces intrants chimiques sont tels que leur consommation a considérablement augmenté depuis les années 1960 (Matson *et al.*, 1997).

I.1.2. Vers une agriculture durable

Cependant, l'augmentation de la consommation de pesticides et de fertilisants de synthèse présente de lourds inconvénients. Aujourd'hui, de nombreux constats alarmants de dégradation de la qualité de l'environnement sont induits de cette surconsommation (Foley *et al.*, 2011). Le désherbage systématique a également considérablement diminué la biodiversité végétale dans les paysages agricoles (Fried *et al.*, 2009).

Par ailleurs, les agriculteurs sont également devenus dépendants des intrants chimiques, réduisant les recours à certaines pratiques agronomiques, et contribuant à la simplification des systèmes de culture (Matson *et al.*, 1997). Les limites de la lutte chimique exclusive sont également perceptibles au niveau de l'efficacité des produits. L'utilisation intensive et répétée de produits phytosanitaires avec le même mode d'action a engendré une pression de sélection sans précédent sur les populations visées. Les insecticides ont été les premiers produits concernés par l'apparition de résistances. En 1991, une liste des cas de résistance apparus chez les arthropodes de 1914 à 1989 est publiée (Georghiou et Lagunes-Tejada, 1991). Les fongicides ont également été touchés, avec le premier cas de résistance chez l'oïdium en 1969 envers le benzimidazole, soit un an après l'introduction de ce fongicide. En 1984, des résistances étaient reportées chez la plupart des pathogènes visés par ce fongicide (Smith, 1988). Enfin les herbicides ont également suivi, avec le premier cas reporté de résistance aux triazines chez le séneçon commun en 1970 (Prather *et al.*, 2000). En 2013, 220 espèces de plantes sont résistantes à un herbicide (Heap, 2013). Pour pallier à ces résistances aux herbicides, l'ancienne approche consistait à attendre le développement d'un nouvel herbicide, mais à l'heure actuelle cette stratégie n'est plus possible (Rüegg *et al.*, 2007). De ces différents constats découlent les récentes décisions politiques (Grenelle de l'environnement 2009, 2010, plan Ecophyto 2018, plan Ecophyto) et de nouveaux objectifs pour l'agriculture.

Ceux-ci orientent notamment l'agriculture vers le développement de modes de production durables, respectueux des ressources naturelles et de la biodiversité, et 50% moins consommateurs de pesticides pour le plan Ecophyto 2018.

Le bilan de l'intensification agricole apparaît donc mitigé et la question de l'avenir de l'agriculture se pose : l'agriculture intensive, si elle semble la plus à même de nourrir une planète dont la population est en constante augmentation, est-elle viable sur le long terme ? Ne peut-on pas imaginer une intensification durable de l'agriculture (Anonyme, 2009) ? La protection intégrée des cultures apparaît alors comme une alternative plausible (Reganold *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2011) en réponse à ces nouveaux objectifs.

I.1.3. Qu'est-ce que la protection intégrée des cultures ?

Tout en restant très marginal, le concept d'« intégration » dans l'agriculture est apparu dès la fin des années 50. Il s'agissait alors d'une combinaison « avantageuse et prometteuse » de la lutte biologique (par ex. allélopathie, introduction d'espèces antagonistes) et chimique pour lutter contre des arthropodes ravageurs (Stern *et al.*, 1959). Puis, la lutte contre les bioagresseurs est dite « intégrée » lorsqu'elle est considérée comme faisant partie d'un tout, plus global : l'agroécosystème (Altner *et al.*, 1977). Cependant il n'existe pas aujourd'hui une définition précise et fixe de la protection intégrée. Une récente étude en a dénombré pas moins de 64 définitions différentes (Bajwa et Kogan, 2002). La protection intégrée fait en effet l'objet de nombreuses études dans différents contextes agricoles (Way et Van Emden, 2000; Elher, 2006). La protection intégrée rassemble une grande quantité de pratiques agronomiques alternatives (par ex. rotation diversifiée, choix variétaux, modalités de travail du sol et/ou de semis, confusion sexuelle...) dont certaines sont déjà utilisées par les agriculteurs (Bailey *et al.*, 2009). L'utilisation combinée de ces pratiques, dans l'optique de réduire la dépendance aux intrants chimiques, représente cependant une rupture avec l'agriculture conventionnelle, et nécessite le développement et l'évaluation de nouveaux systèmes de culture (Ferron et Deguine, 2005). Encore perçus comme compliquée et consommatrice de temps par les agriculteurs (Elher, 2006), la protection intégrée dans les systèmes de culture ne doit pas impacter la viabilité des systèmes. Leur efficience économique reste un critère d'adoption primordiale pour les agriculteurs (Llewellyn *et al.*, 2004).

I.1.4. Cas de la protection intégrée contre les adventices

Une des principales sources de nuisance pour les cultures sont les plantes adventices (Oerke *et al.*, 2006). Au sens étymologique, l'adjectif « adventice » vient du latin « *adventicius* » qui signifie « qui vient de l'extérieur », par opposition à ce qui est inné. Ainsi dans le contexte agricole, une plante dite « adventice » ou « une adventice » est une plante qui croit dans un champ sans y avoir été semée. Or les adventices se développant dans les champs entrent en compétition pour les ressources avec les plantes cultivées (Berkowitz, 1988). Cette compétition pour les ressources peut se faire sur divers plans, aussi bien au niveau racinaire pour l'utilisation de l'eau ou de l'azote du sol (Dunbabin, 2007), qu'au niveau foliaire pour l'exposition à l'ensoleillement (Page *et al.*, 2010). Sans lutte, les adventices peuvent alors engendrer jusqu'à 30 % de pertes de rendement (Oerke *et al.*, 1994). Cependant leur perception globale tend à changer (Petit *et al.*, 2010) et les adventices peuvent être considérées également comme source de services écosystémiques (Marshall *et al.*, 2003). Il ne s'agit plus alors de les éradiquer totalement mais de les maîtriser à un seuil de nuisance tolérable. Cette gestion intégrée des adventices fait l'objet de nombreuses études (Thill *et al.*, 1991; Melander *et al.*, 2005). Economiquement, la protection intégrée contre les adventices peut également s'avérer une alternative viable (Smith *et al.*, 2006), notamment en raison des économies réalisées sur le coût des intrants chimiques (Angiras et Singh, 1989; Munier-Jolain et Dongmo Ngoutsop, 2010; Olorunmaiye, 2011). Il a également été montré qu'il était possible de contrôler efficacement les adventices dans un système tout en réduisant les recours aux herbicides (Chikowo *et al.*, 2009), d'autant plus si l'emploi du désherbage mécanique est possible (Buhler *et al.*, 1992). Ceci permet par ailleurs de limiter l'apparition d'individus résistants (Harker, 2013), et augmenter la diversité des adventices (Clements *et al.*, 1994).

I.1.5. Les leviers agronomiques pour lutter contre les adventices

Cette maîtrise est permise grâce à l'intégration de différentes pratiques agronomiques alternatives à effets partiels directs et indirects sur le développement des adventices (Fig. I.2).

Chaque composante d'un système de culture, la nature de ses cultures, leur ordre de succession et les itinéraires techniques appliqués à ces différentes cultures (Sebillote, 1975), peut potentiellement affecter le développement des adventices. La combinaison de leurs effets partiels peut permettre de gérer la flore adventice tout au long de l'année culturale (Table I.1).

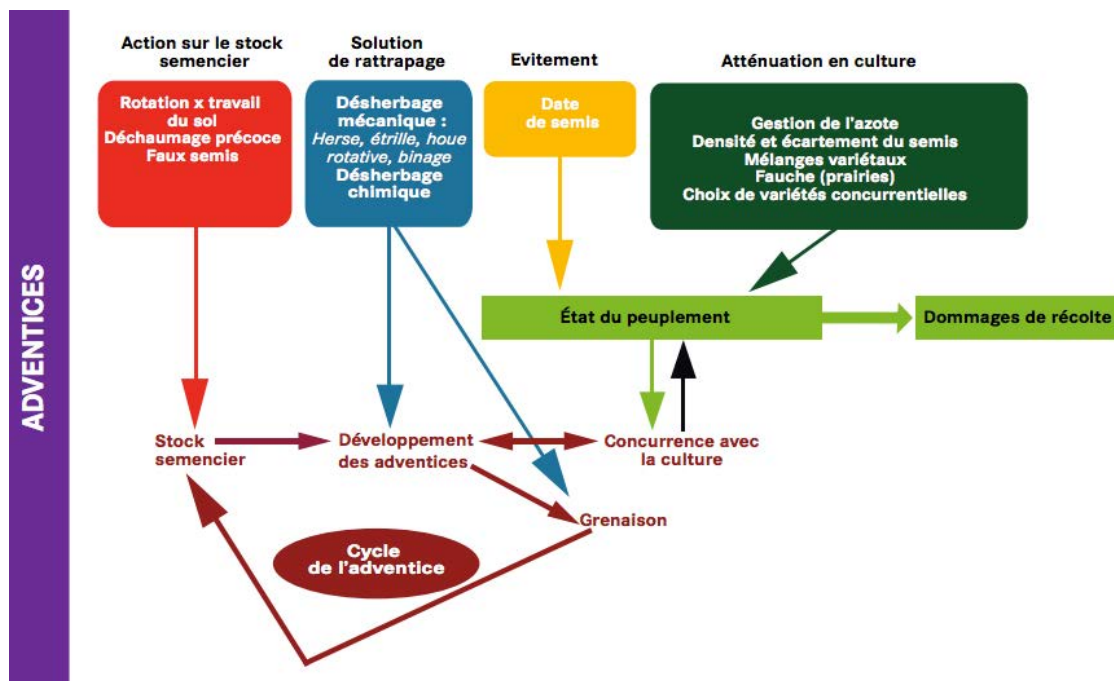


Figure I.2 : Pratiques alternatives de lutte contre les adventices
(Attoumani-Ronceux *et al.*, 2011).

Tableau I.1 : Effets attendus des principales pratiques agronomiques rencontrées en protection intégrée contre les adventices (d'après Anonyme, 2013).

Type d'action	Leviers	Pratiques agronomiques	Effet attendu
Action préventive	Rotation des cultures	Diversification et allongement	Déspecialisation de la flore
		Introduction de cultures nettoyantes ou étouffantes	Étouffement des adventices
	Travail du sol	Faux semis	Germination contrôlée
		Labour	Enfouissement des graines Destruction des adventices
Evitement	Date de semis	Semis avancé ou tardif	Évitement ou orientation la compétition culture-adventice
	Modalité de semis	Semis direct, travail uniquement dans le rang	Limiter les germinations en inter-rang
Action en culture	Choix variétal	Introduction de cultures plus compétitives	Orientation de la compétition culture-adventices
		Association de cultures	Orientation de la compétition culture-adventices Limitation de l'espace libre pour les adventices
	Semis	Forte densité, Faible écartement	Étouffement des adventices
	Fertilisation	Choix de culture nitrophiles	Orientation la compétition culture-adventices
Rattrapage	Désherbage	Lutte mécanique	Destruction des adventices
		Lutte biologique	
		Lutte chimique	

Il conviendra cependant d'optimiser ces pratiques aux conditions spécifiques de chaque site pour limiter leur prolifération (Buhler, 2002; Zoschke et Quadranti, 2002). Toutefois, le recours à certaines pratiques agronomiques alternatives peut présenter des risques pour l'environnement (Table I.2) (Anonyme, 2009).

Tableau I.2 : Effets secondaires des pratiques agricoles fréquemment utilisées en protection intégrée contre les adventices (d'après Anonyme, 2009).

Pratiques agricoles	Effets positifs attendus	Effets indésirables potentiels
Épandage de compost ou lisier	Amélioration de la qualité et de la texture du sol	Fuite de nutriments vers l'eau de surface et les nappes Emissions de N ₂ O
Fertilisation		Pollution des eaux de surface et profonde Emissions de N ₂ O Eutrophisation de l'eau de surface
Culture de légumineuse et/ou incorporation de résidus	Stockage de carbone	Fuite d'azote
Mulch, plante de couverture	Réduction de l'érosion des sols Recharge accrue des aquifères Stockage de carbone	Fuite d'azote vers l'eau du sol
Non labour, techniques culturales simplifiées	Stockage de carbone Réduction de l'érosion et du ruissellement	Emissions de N ₂ O

Compte tenu de la complexité des effets résultant des pratiques et de leurs interactions, il apparaît donc nécessaire d'évaluer la durabilité des systèmes par une approche multicritère, intégrant non seulement les performances agronomiques et économiques mais également environnementales (Swanton et Weise, 1991; Sadok, 2009).

I.2. Problématique des émissions de N₂O

I.2.1. Pourquoi s'intéresser aux effets secondaires sur les émissions de N₂O?

L'oxyde nitreux (N₂O) est un puissant gaz à effet de serre (GES) participant au changement climatique. Son pouvoir de réchauffement global calculé sur 100 ans (PRG100) est estimé à 298 fois celui du CO₂ (IPCC, 2007), tandis que sa durée de vie dans l'atmosphère avoisine les 120 ans (IPCC, 2007). Or, depuis le début de l'ère industrielle, la concentration atmosphérique en N₂O a augmenté de façon exponentielle (Fig. I.3). En 1850, la teneur atmosphérique moyenne en N₂O avoisinait les 270 ppb (partie par milliard) alors qu'elle est aujourd'hui proche des 320 ppb.

N₂O : Appelé oxyde nitreux ou protoxyde d'azote, ce gaz est utilisé en chirurgie pour ses propriétés anesthésiantes. Il est également appelé « gaz hilarant » en raison de ses propriétés neurologiques.

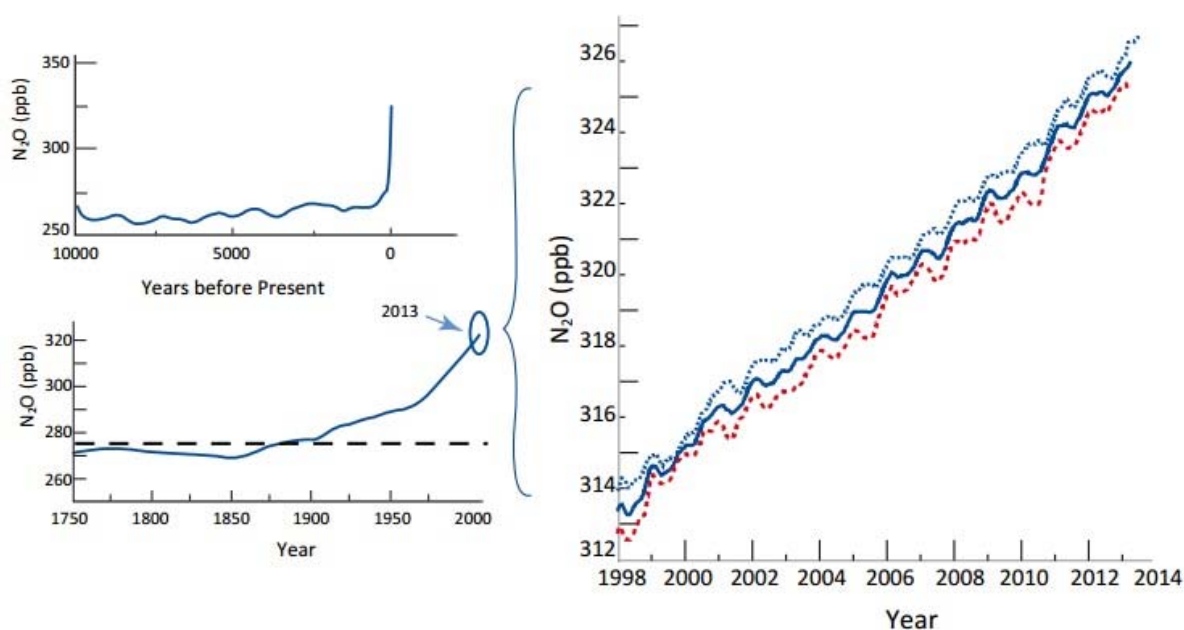


Figure I.3 : Augmentation de la concentration atmosphérique du N₂O (UNEP, 2013).

En conséquence, N₂O est identifié comme le 3^{ème} plus important contributeur au réchauffement additionnel actuel (IPCC, 2007).

Par ailleurs, N₂O pourrait être également considéré comme une substance appauvrissant la couche d'ozone (ODS), son potentiel d'appauvrissement de la couche d'ozone (ODP) étant comparable à celui de certains hydrochlorofluorocarbures (Ravishankara *et al.*, 2009). Depuis le protocole de Montréal relatif aux ODS et la diminution subséquente des émissions de

chlorofluorocarbones (CFCs), le N_2O est également la substance destructrice de l'ozone stratosphérique la plus émise (Fig I.4).

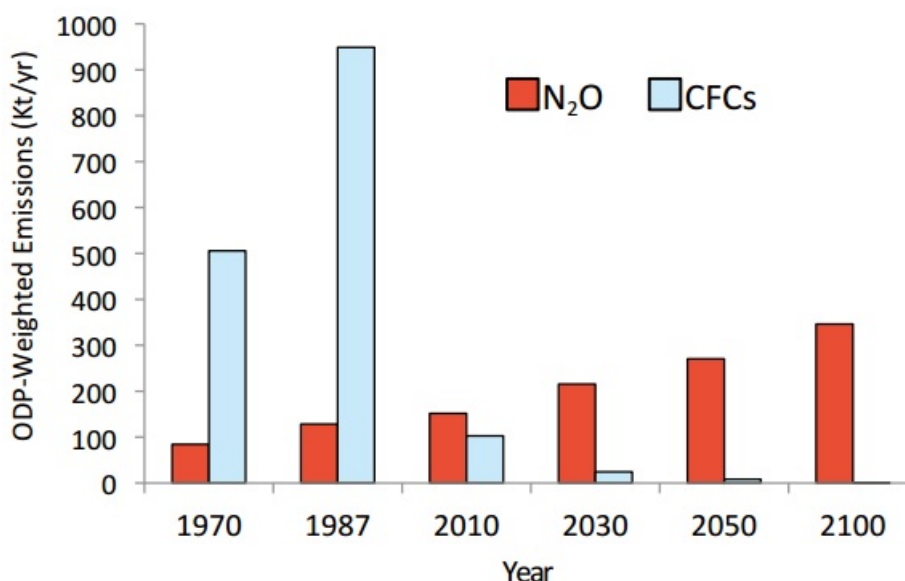


Figure I.4 : Emissions actuelles et prévisionnelles de N_2O et de CFCs pondérées par le potentiel d'appauvrissement de la couche d'ozone des gaz. (UNEP, 2013).

I.2.2. Quelles sont les sources des émissions de N_2O ?

Le N_2O de l'atmosphère est issu de différentes sources naturelles et anthropiques (Fig. I.5). On estime les émissions naturelles de N_2O depuis les sols, les océans et l'atmosphère à environ $11 \text{ Tg N-N}_2\text{O an}^{-1}$ dans le monde (IPCC, 2007). Cependant ces émissions n'entrent pas en compte dans l'augmentation des concentrations en N_2O dans l'atmosphère, puisqu'en équilibre avec les puits naturels de N_2O (UNEP, 2013). En revanche, les émissions anthropiques, estimées à $5.3 \text{ Tg N-N}_2\text{O an}^{-1}$, ne sont pas compensées par ces puits.

La production de nourriture est souvent considérée comme la principale source de ces émissions anthropiques à l'échelle mondiale (Syakila et Kroeze, 2011). L'agriculture contribuerait en effet à hauteur de plus de deux tiers des émissions anthropiques, soit $4.1 \text{ Tg N-N}_2\text{O an}^{-1}$ (UNEP, 2013).

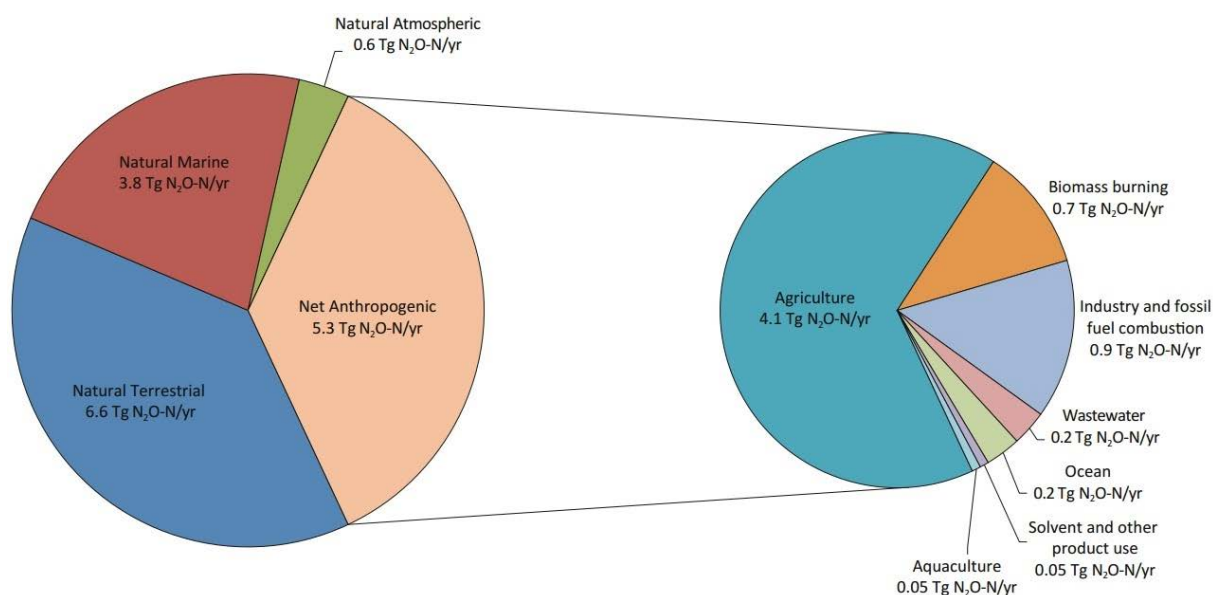


Figure I.5 : Principales sources d'émissions de N₂O dans le monde (gauche) et détail des émissions anthropiques (droite) en 2005 (UNEP, 2013).

En France, le CITEPA est l'organisme qui a la charge de l'évaluation des émissions de gaz à effet de serre d'origine anthropique, sur la base des règles de calcul définies par l'IPCC. Les calculs réalisés par le CITEPA (2013) font ressortir la très grande contribution de l'agriculture aux émissions de N₂O dues aux émissions de N₂O par les sols. La proportion de N₂O émise par l'agriculture et la sylviculture a considérablement augmenté ces dernières années, avec une hausse estimée de 22% entre 1990 et 2011 (Fig. I.6).

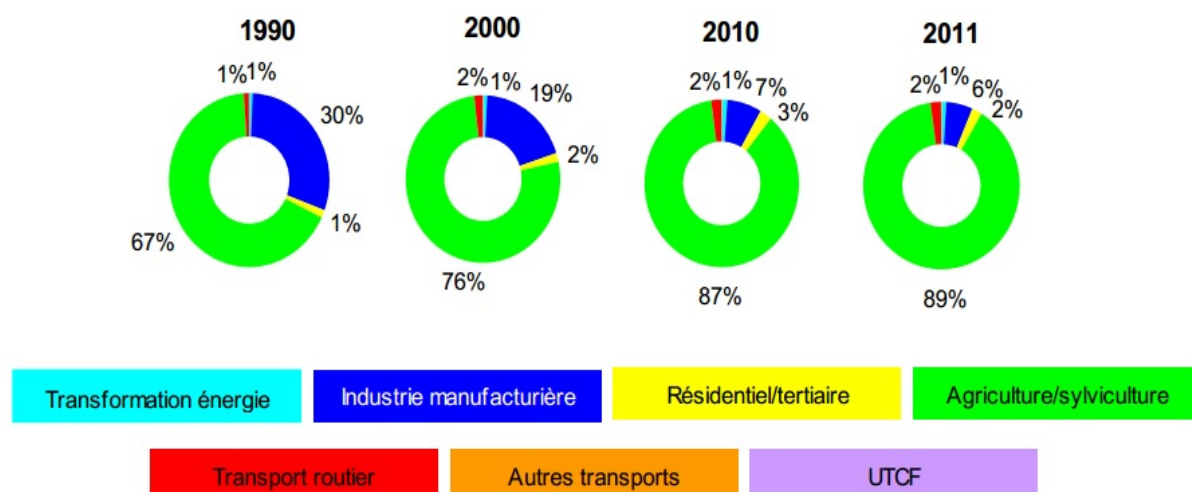


Figure I.6 : Répartition des émissions de N₂O en France en 1990 (à gauche) et en 2008 (à droite) (CITEPA, 2013).

Dans le souci de réduire globalement les émissions de N_2O anthropiques, il apparaît donc capital de maîtriser les émissions de N_2O des systèmes de culture (Mosier *et al.*, 1996). Cependant, notre connaissance des processus impliqués dans le cycle de l'azote dans les sols apparaît encore aujourd'hui perfectible (Butterbach-Bahl *et al.*, 2013).

I.2.3. Quels sont les mécanismes à l'origine des émissions de N_2O par les sols?

Actuellement, les émissions de N_2O par les sols sont identifiées comme la résultante du fonctionnement de 9 processus chimiques et biologiques d'oxydoréduction (Fig. I.7).

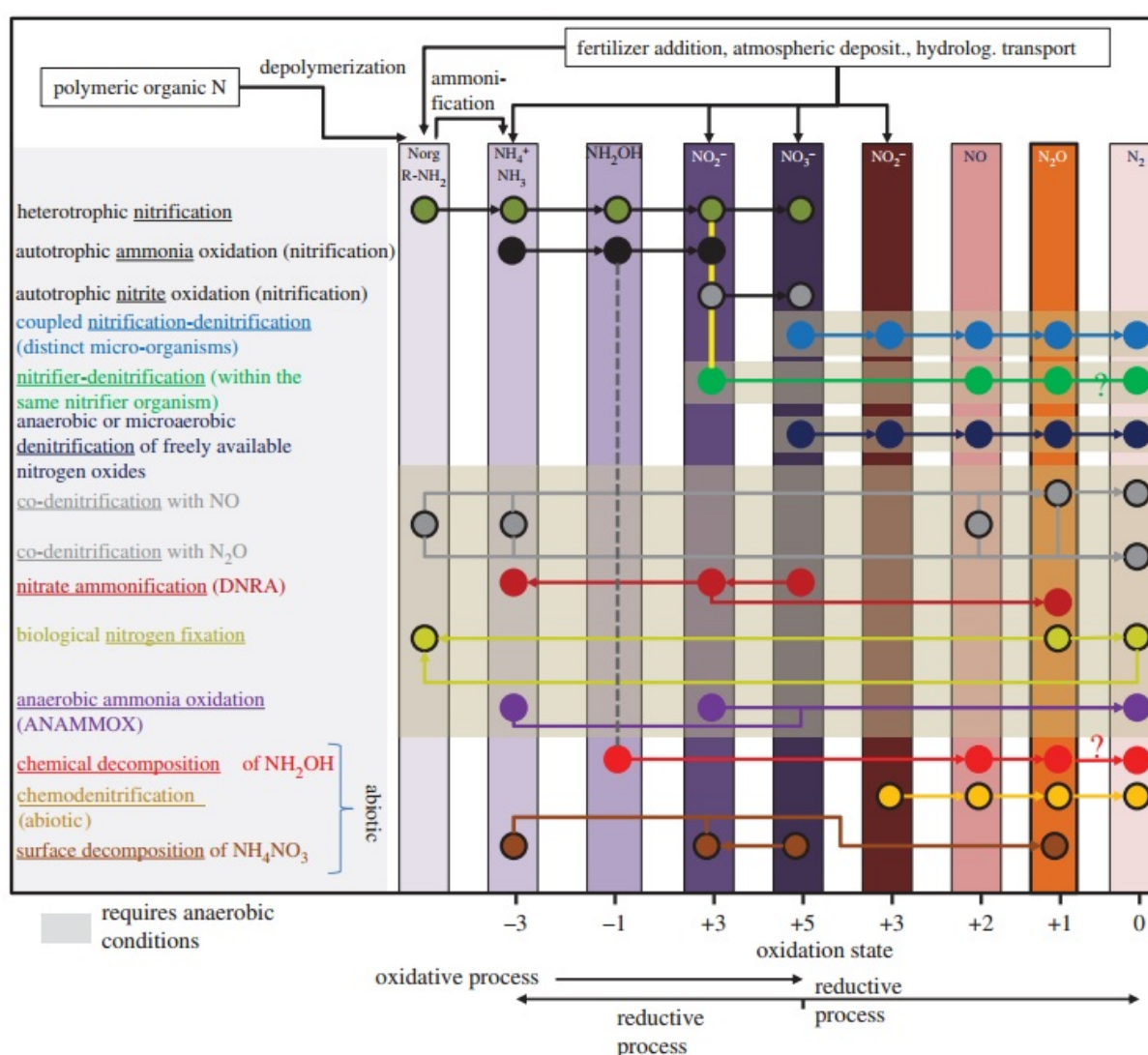


Figure I.7 : Processus chimiques et biologiques du sol contribuant aux émissions de N_2O (Butterbach-Bahl *et al.*, 2013).

I.2.3.1. Nitrification

La nitrification est définie comme un processus majoritairement aérobie (Linn et Doran, 1984) en deux étapes (Kowalchuk et Stephen, 2001), la nitrification et la nitrification, conduisant à l'oxydation de l'ammonium (NH_4^+) et de ses composés dérivés en présence d'oxygène, jusqu'à sa transformation en nitrate (NO_3^-) (Simek, 2000). La nitrification consiste en l'oxydation de l'ammonium en nitrites (NO_2^-). Elle est catalysée par la monooxygénase de l'ammonium (AMO), une enzyme codée par le gène *amoA*, présent chez les communautés bactériennes oxydantes de l'ammonium (AOB) et archéennes (AOA). La production de protoxyde d'azote (N_2O) au cours de cette étape résulterait de l'altération d'un composé nitroxyde (HNO) issu de l'oxydation de l'hydroxylamine (NH_2OH) en nitrite (NO_2^-) (Otte *et al.*, 1999), sous l'effet de l'hydroxylamine oxydase codé par le gène *hao* (Hofman et Lees, 1953 ; Ritchie et Nicholas, 1972).

La nitrification reste encore peu documentée (Ollivier *et al.*, 2013). Cette transformation serait réalisée par des bactéries capables d'oxyder les nitrites en nitrates (NOB) (Kowalchuk et Stephen, 2001). Cette oxydation est catalysée par l'enzyme nitrite oxydoréductase (Starkenbourg, 2006), codé par le gène *nxrA* (Ollivier *et al.*, 2013). Aucune espèce bactérienne ou archéenne découverte à ce jour n'est capable de réaliser les deux étapes de la nitrification.

Le processus de nitrification est généralement attribué à des organismes autotrophes. Néanmoins, on observe aussi une nitrification hétérotrophe impliquant la même chaîne de transformation de l'ammonium du sol que son homologue autotrophe (Wrage *et al.*, 2001). Ce processus serait principalement réalisé par des champignons, notamment dans les sols à pH acide (Pedersen *et al.*, 1999), bien que des bactéries autotrophes soient capables de nitrifier dans ces conditions. Par ailleurs, bien qu'identifié une source mineure de N_2O (Zhu *et al.*, 2010), en conditions optimales (pH faible, forte concentration en oxygène et disponibilité en carbone) la nitrification peut parfois conduire à des émissions de N_2O significatives (Wrage *et al.*, 2001).

Les émissions de N_2O au cours de la nitrification apparaissent comme un produit secondaire de l'étape d'oxydation de l'ammonium (Garrido *et al.*, 2002) tandis que d'autres auteurs mettent en avant une dénitrification des nitrites par les bactéries nitrifiantes (Fig. I.8).

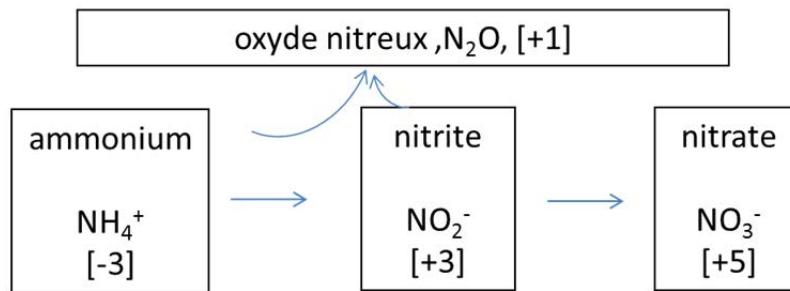


Figure I.8 : Emissions de N₂O par nitrification. Les crochets indiquent le degré d'oxydation des composés azotés.

I.2.3.2. Dénitrification

La dénitrification est un processus bactérien de réduction dissimilaire des oxydes d'azote successivement en 4 étapes (Knowles *et al*, 1982) (Fig. I.9).

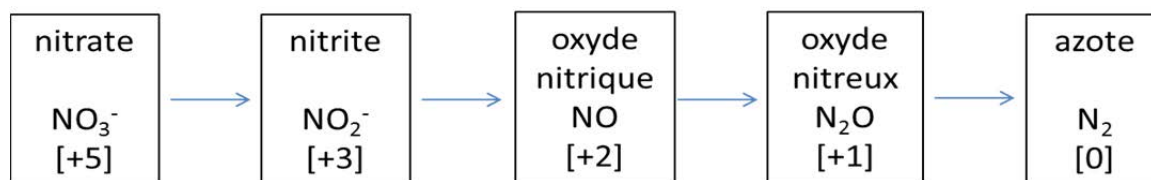


Figure I.9 : Emissions de N₂O par dénitrification *sensu stricto*. Les crochets indiquent le degré d'oxydation des composés azotés.

En cas de pression en oxygène faible, certaines bactéries aérobies - anaérobies facultatives sont capables de réduire NO₃⁻ et ses composés dérivés, afin de produire l'énergie nécessaire à leur développement (Mahne et Tiedje, 1995). La première étape de ce processus consiste en la réduction des nitrates NO₃⁻ en nitrites NO₂⁻. Environ 2/3 des bactéries des sols seraient capables de réaliser cette transformation (Hénault et Germon, 1995). Cette réaction est catalysée par l'enzyme nitrate réductase respiratoire (Nar) présent chez certaines bactéries. Deux autres enzymes, Nas et Nap sont également capables de catalyser cette réaction dans un but non respiratoire, mais n'initient pas une réaction complète de dénitrification (Tavares *et al.*, 2006).

La réduction des nitrites NO₂⁻ en monoxyde d'azote NO est catalysée par les enzymes de type nitrite réductase (Nir) (Knowles, 1982). Les deux principaux gènes codant pour la nitrite

réductase sont les gènes *nirS* et *nirK*, leur abondance ou leur diversité dans le sol étant utilisées comme proxy de celles des communautés dénitrifiantes (Braker *et al.*, 2000).

Enfin, la réduction du monoxyde d'azote NO en protoxyde d'azote N₂O est ensuite effectuée grâce à une réductase propre au monoxyde d'azote, codée par le gène *norB* chez certaines bactéries dénitrifiantes (Braker et Tiedje, 2003). C'est au cours de cette étape, obligatoire dans la chaîne de dénitrification *sensu stricto* (Knowles, 1982), qu'est produit le N₂O.

Par ailleurs, la dénitrification est également identifiée comme le seul processus consommateur de N₂O dans les sols (Vieten *et al.*, 2008). Dans le cas d'une dénitrification complète, le N₂O peut être réduit en N₂ dans les sols avant d'être émis. Cependant, un faible pourcentage de la flore dénitrifiante, entre 0.1 et 5%, apparaît capable d'effectuer cette réduction du N₂O en N₂ (Philippot et Germon, 2005). Cette réaction est catalysée par une réductase spécifique au protoxyde d'azote, codée par le gène bactérien *nosZ* (Henry *et al.*, 2006). La quantification de l'abondance de ce gène dans le sol, en sus des gènes *nirS* et *nirK*, permet d'estimer la proportion de bactéries dénitrifiantes capables de réduire le N₂O.

1.2.3.3. Dénitrification et nitrification couplées

La dénitrification et la nitrification couplées ne sont pas des processus indépendants (Wrage *et al.*, 2001). A micro-échelle, il est possible que des conditions aérobie et anaérobie coexistent temporairement, notamment dans le cas de sols hydromorphes, ou présentant des fissures (Wrage *et al.*, 2001). Dans ce cas, l'activité dénitrifiante peut être combinée avec l'activité nitrifiante, c'est-à-dire que les nitrates produits par nitrification peuvent être directement dénitrifiés.

1.2.3.4. Dénitrification par les organismes nitrifiants

Certaines bactéries nitrifiantes seraient également capable de réduire les nitrites NO₂⁻ en N₂O lors d'un bref passage en condition anaérobie (Ritchie et Nicholas, 1972 ; Kool *et al.*, 2011). Cette transformation est rendue possible en raison de la présence des gènes *nirK-N* et *norB-N* homologues des gènes dénitrifiants, chez certains organismes nitrifiants (Lu *et al.*, 2012).

1.2.3.5. Réduction dissimilatoire des nitrates en ammonium (DNRA)

La DNRA ou ammonification des nitrates est un processus biologique qui, à l'inverse de la nitrification, conduit à la transformation des nitrates et des nitrites en ammonium (Butterbach-Bahl *et al.*, 2013). Ce processus intervient dans des milieux à conditions anoxiques prolongées, tels que des sols tropicaux humides ou inondés, et est essentiellement réalisé par des bactéries anaérobies ou aérobies facultatives (Silver *et al.*, 2001), voire aérobies

(Fazzolari, *et al.*, 1990). Ce processus peut être amené à produire du N_2O (Rütting *et al.*, 2011), notamment au cours de la réduction des nitrites (Butterbach-Bahl *et al.*, 2013), cependant sa contribution aux émissions est encore peu connue (Baggs et Philippot, 2011).

1.2.3.6. Co-dénitrification

Le processus de co-dénitrification est un processus bactérien et fongique peu connu (Baggs et Philippot, 2011), fonctionnant simultanément avec la dénitrification. Il conduit à la combinaison d'un atome d'azote en provenance de NO ou N_2O pour former un nouveau produit, émettant potentiellement au cours de ce processus du N_2O (Baggs et Philippot, 2011; Butterbach-Bahl *et al.*, 2013).

1.2.3.7. Processus abiotiques de production de N_2O dans les sols

La chémodénitrification est un terme générique englobant les réactions chimiques de réduction des nitrites du sol pouvant conduire à des émissions de N_2O (Butterbach-Bahl *et al.*, 2013), bien qu'elle produise majoritairement du monoxyde d'azote (NO) (Wrage *et al.*, 2001). Ces réactions sont généralement observées dans les sols à pH acide ($pH < 5$) (Van Cleemput, 1988). Similairement, la décomposition abiotique de l'hydroxylamine (NH_2OH) ou de l'ammonitrate (NH_4NO_3) sont deux processus de réduction chimique pouvant contribuer à la production de N_2O (Butterbach-Bahl *et al.*, 2013).

1.2.3.8. Contribution relative des différents processus aux émissions de N_2O

Tous les processus décrits précédemment ne contribuent pas de façon équivalente aux émissions de N_2O par les sols. La contribution des processus biologiques apparaît notamment grandement majoritaire (Baggs, 2008), tandis que celle des processus abiotiques est généralement limitée et peu étudiée, notamment en raison de la nécessité de recourir à des méthodes de stérilisation du sol (Robertson et Groffman, 2007).

De même, parmi les processus biologiques, la nitrification et la dénitrification sont généralement identifiés comme les deux principaux processus microbiens impliqués dans le cycle de l'azote (Fig. I.10) à l'origine des émissions de N_2O par les sols (Braker et Conrad, 2011).

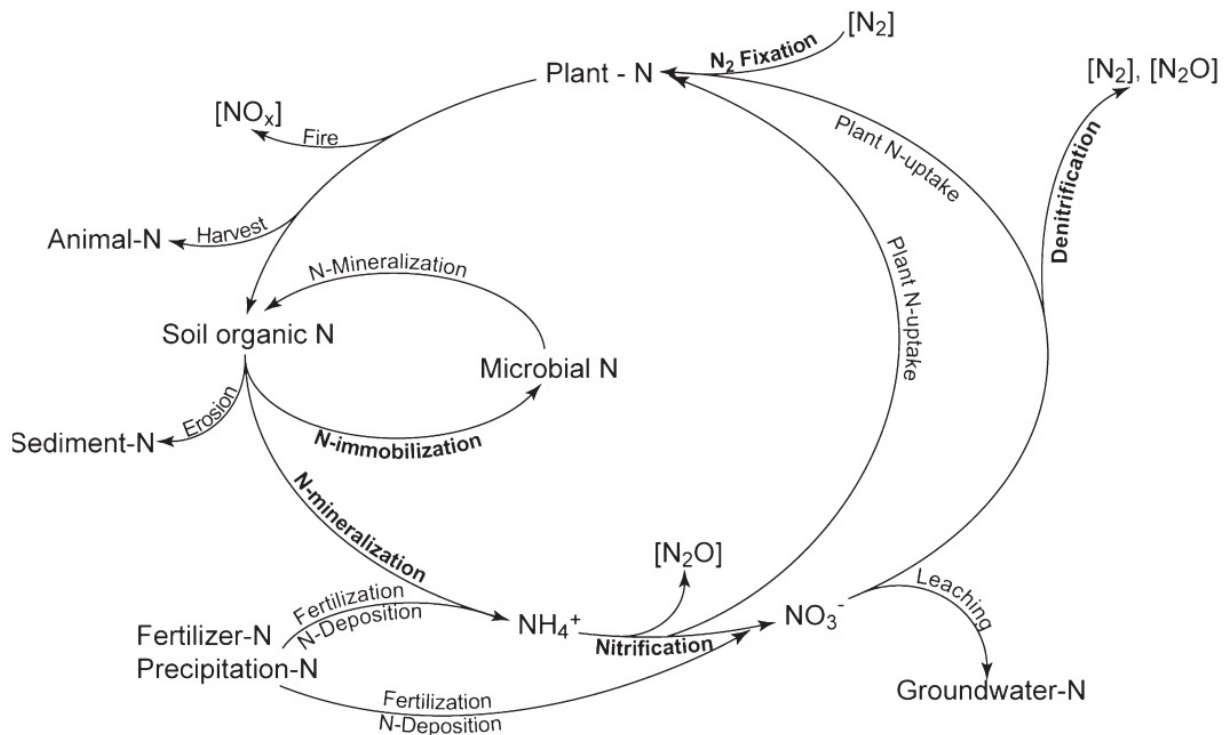


Figure I.10 : Cycle de l’azote dans le sol. Les éléments gazeux sont présentés entre crochets (Robertson et Groffman, 2007).

Leur contribution aux émissions de N_2O est estimée à hauteur d’environ 70% (Syakila et Kroeze, 2011 ; Braker et Conrad, 2011), aussi par simplification les émissions de N_2O sont souvent décrites comme le seul fait de ces processus (Butterbach-Bahl *et al.*, 2013).

I.2.4. Quels sont les facteurs de régulation de l’intensité des émissions de N_2O par nitrification et dénitrification dans les sols?

I.2.4.1. Variabilité des émissions de N_2O dans les sols cultivés

L’intensité des émissions de N_2O par les sols dépend grandement de nombreux paramètres, susceptibles d’influencer d’une part, la structure et la composition des communautés microbiennes impliquées dans ces processus et d’autre par le fonctionnement des processus, notamment de nitrification (Fig. I.11) et de dénitrification (Fig. I.12). Robertson (1989) a également proposé que les facteurs pris en compte pour expliquer les émissions de N_2O dépendent de l’échelle de l’étude.

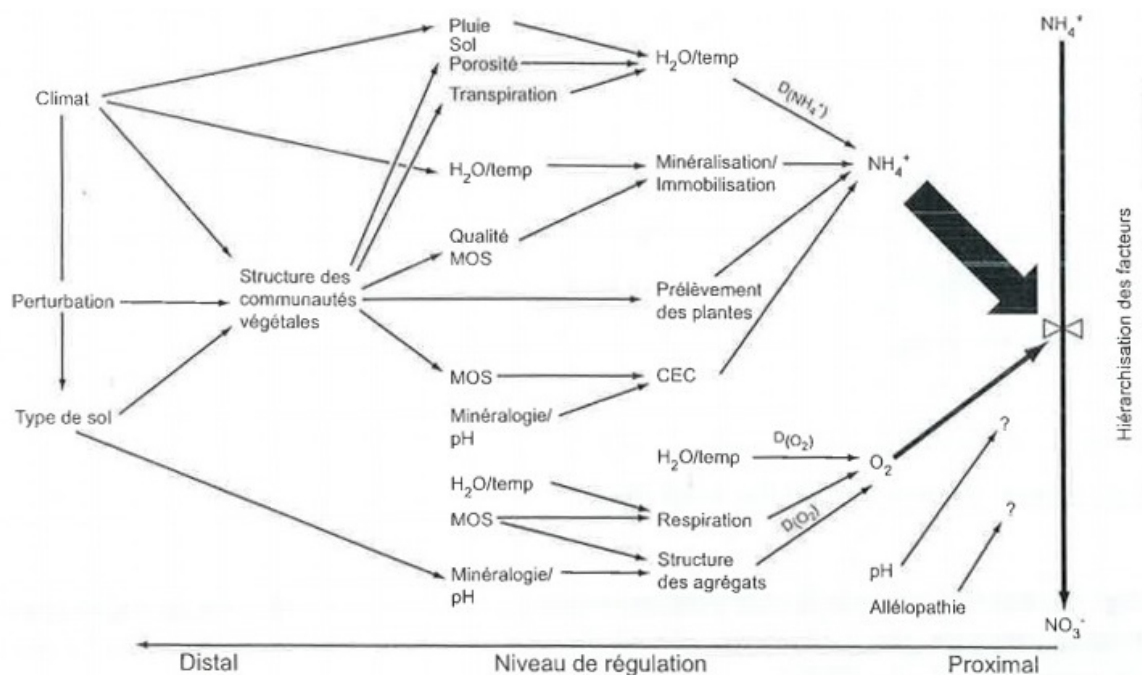


Figure I.11 : Contrôle de la nitrification (d'après Robertson, 1989 in Mathieu, 2005).

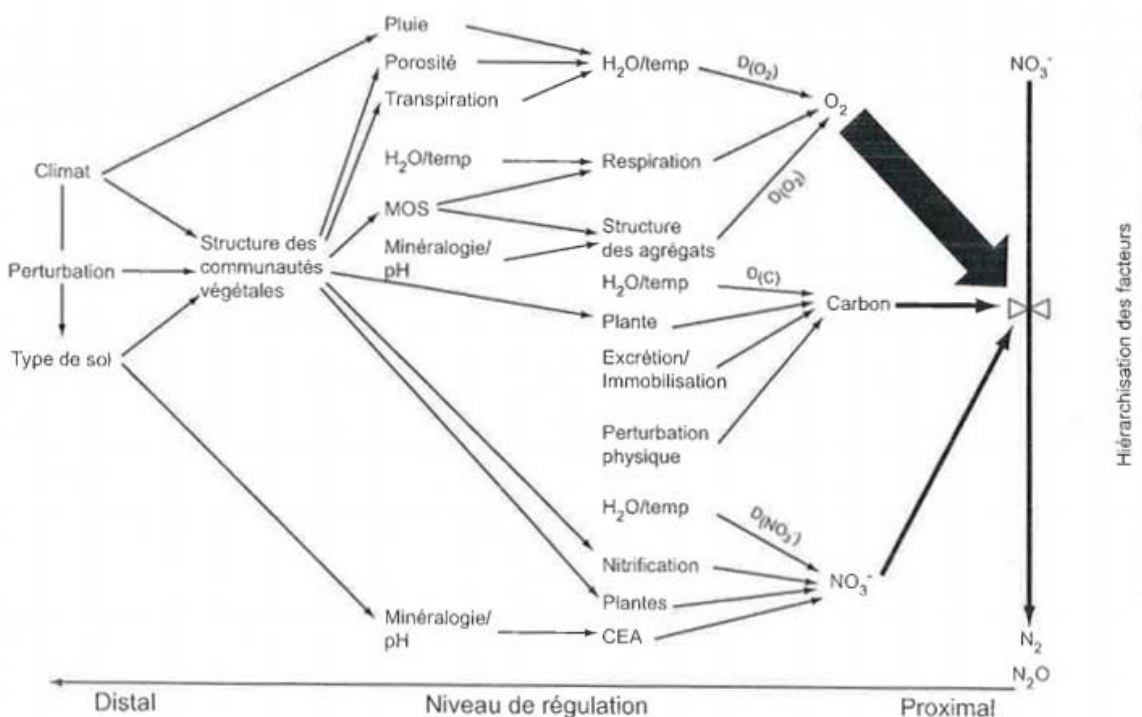


Figure I.12 : Contrôle de la dénitrification (d'après Robertson, 1989 in Mathieu, 2005).

En conséquence, les émissions de N₂O par les sols observées présentent généralement une haute variabilité temporelle et spatiale (Mathieu *et al.*, 2006a). Dans le cas des sols cultivés, cette variabilité sera d'autant plus grande que ces paramètres environnementaux seront

souvent altérés par les pratiques agricoles (par ex. labour, fertilisation, plante de couverture et pesticides) (Smith et Conen, 2004 ; Ceschia *et al.*, 2010 ; Vilain *et al.*, 2010).

Aussi, les émissions de N₂O par les sols cultivés font l'objet de nombreuses synthèses (Mosier *et al.*, 1996 ; Bouwman *et al.*, 1996 ; Beauchamp, 1997). Plus récemment, Stehfest et Bouwman (2006) ont compilé et analysé les résultats de 1008 publications présentant des flux de N₂O mesurés dans des sols agricoles.

La base de données, (http://www.mnp.nl/images/stehfest_data_tcm61-29733.xls) montre des flux journaliers compris entre -2 g N ha⁻¹ j⁻¹ et 5400 g N ha⁻¹ j⁻¹, ces deux valeurs ayant été obtenues sous climat tempéré. La méta-analyse de cette base de données a permis de mettre en évidence une influence significative du climat, des caractéristiques des sols (teneur en carbone organique, pH et texture) et des pratiques agronomiques (fertilisation azotée, type de culture et forme des fertilisants).

1.2.4.2. Effet de la part de porosité occupée par l'eau et du travail du sol

La part de porosité occupée par l'eau (PPOE) est identifiée comme un facteur de régulation majeure des émissions de N₂O par les sols (Dobbie et Smith, 2003; Schaufler *et al.*, 2010).

Caractérisation de l'état d'aération des sols à macroéchelle :

Le niveau d'aération des sols peut être approché par l'évaluation de l'occupation relative en eau et en air de la porosité des sols. En anglais l'indicateur « Water Filled Pore Space » (WFPS) est couramment utilisé pour représenter ce paramètre. Sans équivalence en français, nous utiliserons donc sa traduction littérale : la « part de porosité occupée par l'eau » (PPOE). Celle-ci peut être estimée selon les formules suivantes :

$$PPOE = \frac{\text{Humidité volumique}}{\text{Porosité totale}}$$

avec $\text{Humidité volumique} = \text{Humidité massique} \times \text{Densité apparente}$

et $\text{Porosité totale} = \frac{\text{Densité réelle} - \text{Densité apparente}}{\text{Densité réelle}}$

Ce paramètre est utilisé dans la grande majorité des études relatives à la dénitrification et aux émissions de N₂O par les sols à échelle macroscopique.

Utilisée comme indicateur de l'état d'aération des sols, elle détermine indirectement le métabolisme respiratoire des microorganismes aérobie-anaérobie facultatifs du sol (dénitrifiants), ainsi que l'intensité de processus aérobies (nitrification) ou anaérobies stricts.

La PPOE varie conjointement avec les conditions climatiques (pluviométrie, température), avec parfois de grandes amplitudes au cours du temps. Une faible PPOE sera généralement favorable à l'activité nitrifiante tandis qu'une forte PPOE pourra stimuler l'activité dénitrifiante, avec un seuil particulier à 60% (Fig. I.13), favorable au processus de nitrification et déclenchant l'activité de dénitrification. Néanmoins, il est très possible que la valeur de 60 % ne soit pas générale à toutes les conditions pédoclimatiques.

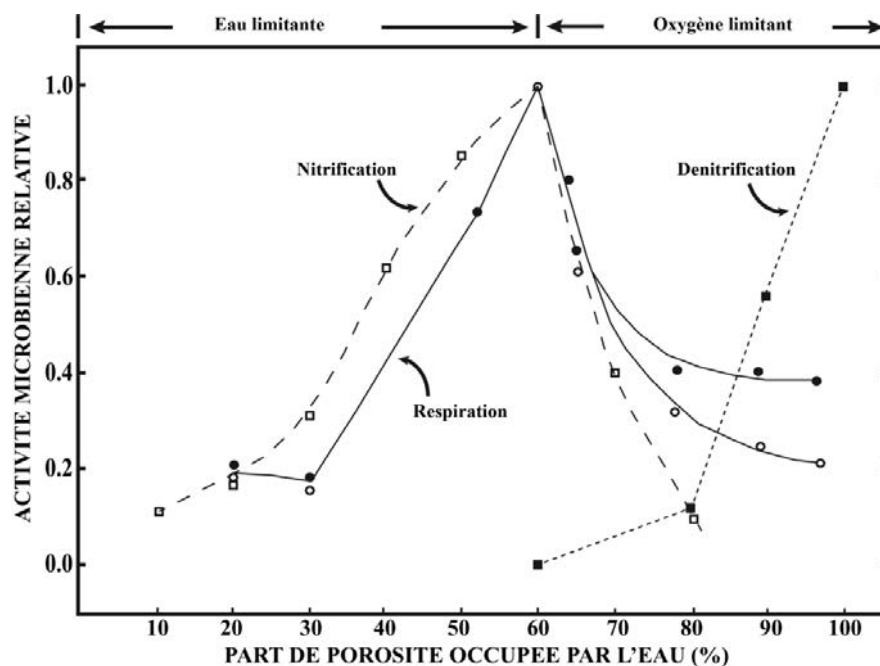


Figure I.13 : Activité nitrifiante et dénitrifiante en fonction de la part de porosité occupée par l'eau (d'après Linn et Doran, 1984).

Or, la contribution respective de la nitrification et de la dénitrification aux émissions de N_2O n'est pas égale. La dénitrification est généralement identifiée comme la source principale des émissions de N_2O (Mathieu *et al.*, 2006b). En conséquence, la PPOE a généralement un impact positif sur les émissions de N_2O par les sols (Fig. I.14). Ainsi, il est fréquent d'observer des pics d'émissions de N_2O lorsque les conditions du sols apparaissent favorables à la dénitrification, notamment après des événements pluvieux (Austin *et al.*, 2004) ou une réhumidification des sols (Ruser *et al.*, 2006), élevant la PPOE du sol et créant des conditions d'anoxie temporaire dans le sol. Dans le cas d'un sol très sec, la production de N_2O peut être relativement limitée voire nulle (Bateman et Baggs, 2005).

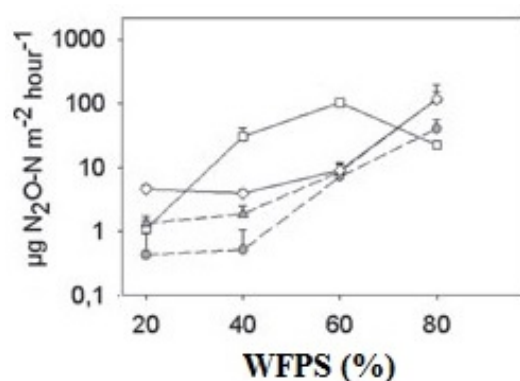


Figure I.14 : Effet de la part de porosité occupée par l'eau sur les émissions de N₂O par les sols de quatre systèmes de culture (d'après Schaufler *et al.*, 2010).

La PPOE d'un sol dépend également fortement de la structure du sol, et donc du type de travail du sol réalisé (Chervet *et al.*, 2006). D'une façon générale, on peut considérer que moins le sol sera travaillé, plus sa densité sera élevée, plus sa porosité sera faible et facilement saturable en eau. En conséquence, les émissions de N₂O observées sont généralement plus faibles dans le cas d'un sol régulièrement travaillé en profondeur (MacKenzie *et al.*, 1997), que dans le cas d'un sol peu ou non déstructuré par le labour (Six *et al.*, 2002; Oorts *et al.*, 2007) (Fig. I.15).

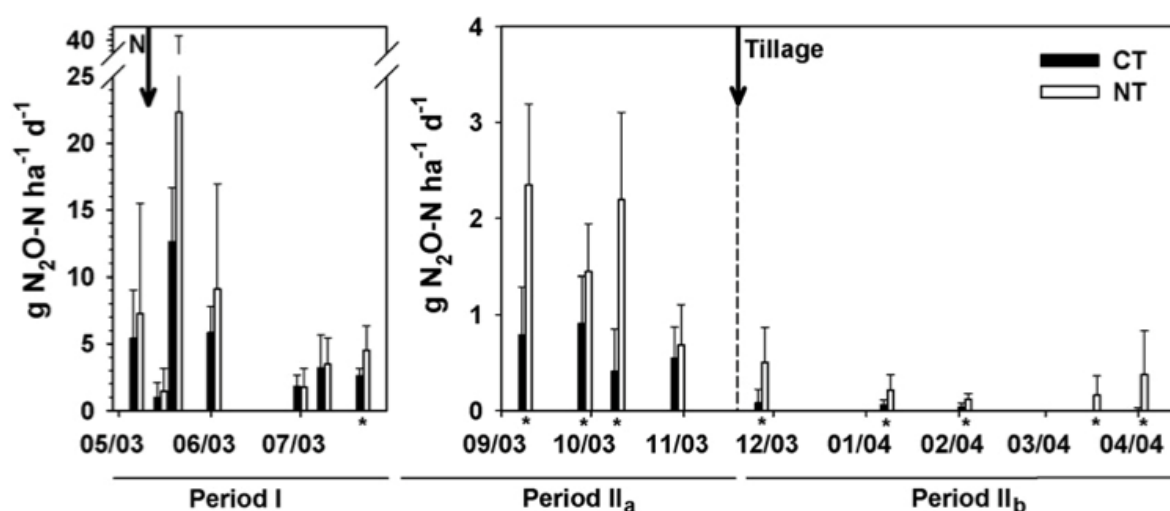


Figure I.15 : Emissions de N₂O sur des parcelles cultivées avec labour (CT) et sans labour (NT) durant deux périodes (Oorts *et al.*, 2007).

En outre, l'intérêt du stockage du carbone dans le sol des systèmes de culture sans labour (Paustian *et al.*, 1997; Freibauer *et al.*, 2004) peut également être contrebalancé par une plus

forte production de N_2O (Johnson *et al.*, 2005), en terme d'émission de GES lorsqu'elle est exprimée en équivalent CO_2 . Cependant, cette tendance tend à s'inverser sur le long terme. Après 10 ans, l'écart d'émissions de N_2O entre NT et CT tend en effet à réduire voire à s'inverser (Six *et al.*, 2004; Nicolardot and Germon, 2008).

I.2.4.3. Azote minéral du sol et fertilisation azotée

Substrats respectivement de la dénitrification et la nitrification, les teneurs en NO_3^- et NH_4^+ présents dans le sol sont deux facteurs essentiels régulant la production de N_2O par les sols. Il est ainsi fréquent d'observer des émissions de N_2O plus importantes immédiatement après une fertilisation azotée (Fig. I.16) (Baggs *et al.*, 2003; Kavdir *et al.*, 2008) ou dans les jours qui suivent (Avrahami et Bohannan, 2009).

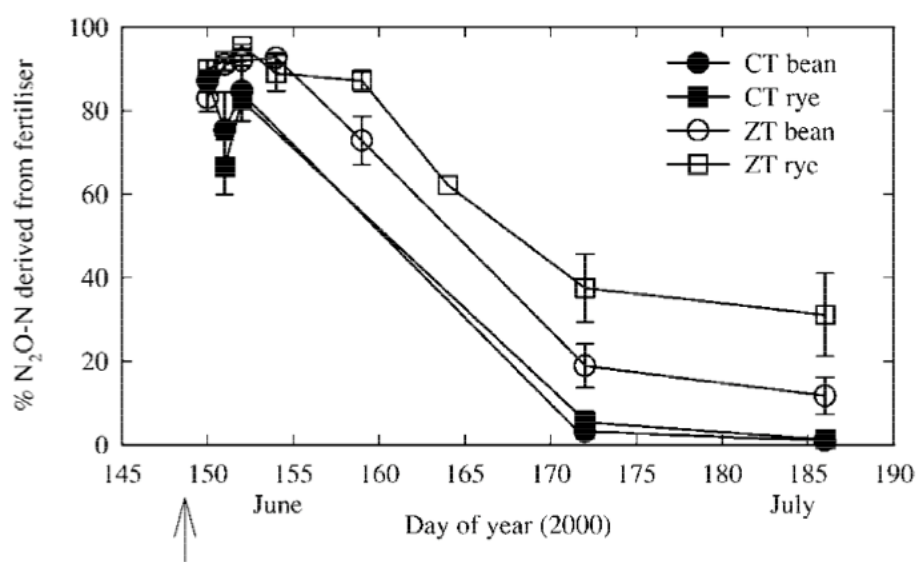


Figure I.16 : Pourcentage d'émissions de N_2O dérivant de la fertilisation azotée sur 4 systèmes en 2000. La date de fertilisation est représentée par la flèche (Baggs *et al.*, 2003).

L'apport des résidus de culture peut également stimuler l'activité microbienne et les émissions de N_2O (Baggs *et al.*, 2003, Chen *et al.*, 2013), plus ou moins selon le rapport C/N des résidus (Fig. I.17).

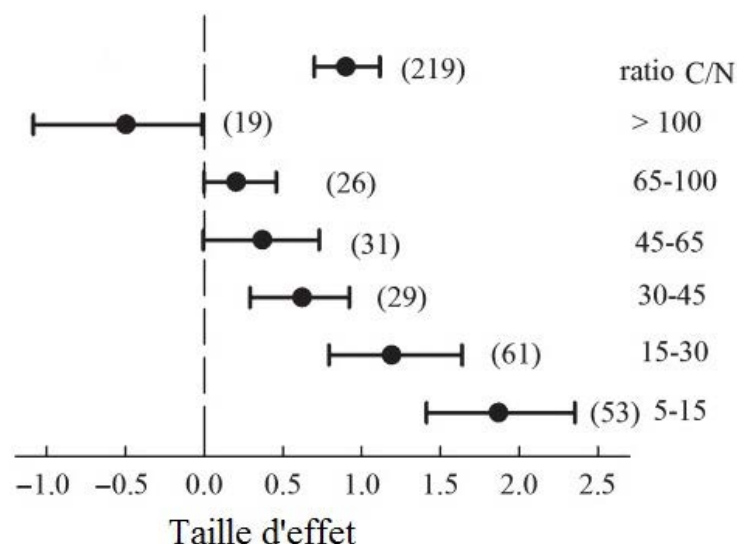


Figure I.17 : Effet de l’apport de résidus de culture sur les émissions de N_2O en fonction de leur rapport C/N. Le nombre de valeurs est indiqué entre parenthèses (d’après Chen *et al.*, 2013).

La décomposition des cultures très fixatrices de l’azote, telles que les légumineuses, peut notamment induire des pics d’émissions de N_2O (Velthof *et al.*, 2002; Rochette *et al.*, 2004). Néanmoins, l’effet positif des résidus de culture de légumineuses sur les émissions de N_2O n’est pas systématiquement observé (Jeuffroy *et al.*, 2013).

A l’échelle globale, Stehfest et Bouwman (2006) ont validé une relation linéaire entre l’intensité des flux ($kg\ N-N_2O\ ha^{-1}\ an^{-1}$) et les quantités d’azote apportées à la parcelle ($kg\ N\ ha^{-1}\ an^{-1}$) dont la pente de 0.91 %, sert de valeur de référence dans la méthodologie de calcul des émissions de N_2O à l’échelle nationale proposée par l’IPCC.

1.2.4.4. Effet du pH des sols

En système de culture, le pH des sols est souvent contrôlé et si besoin, maintenu artificiellement à une valeur favorable aux cultures en place (notamment par le biais du chaulage). Or le pH est également un facteur de régulation du développement et de l’activité microbienne des sols (Baath et Arnebrant, 1994), et peut donc indirectement influencer les émissions de N_2O . Yoshida et Alexander (1970) et Chen *et al.* (2013) ont notamment relevé une production de N_2O maximale à pH compris entre 7.1 et 8.4. Toutefois, à pH faible ($pH < 4$), bien que le processus de dénitrification soit encore réalisé par certains organismes, on observe une inhibition de la N_2O réductase et une augmentation du ratio des émissions N_2O/N_2 (Kesik *et al.*, 2006).

I.2.4.5. Effet de la température des sols

De la même manière, la température agit positivement sur le fonctionnement des communautés microbiennes (Pietikainen *et al.*, 2005; Avrahami et Bohannon, 2007), et affecte potentiellement les émissions de N_2O (Fig. I.18).

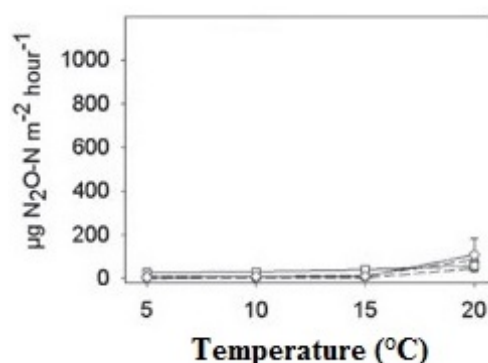


Figure I.18 : Effet de la température sur les émissions de N_2O par les sols de quatre systèmes de culture (d'après Schaufler *et al.*, 2010).

Au contraire, les basses températures et le gel peuvent induire une baisse de la diversité des communautés microbiennes nitrifiante et dénitrifiante (Smith *et al.*, 2009) ainsi qu'un ralentissement de la transformation de l'azote dans le sol (Cookson *et al.*, 2002).

I.2.4.6. Effet des traitements pesticides

L'application de traitements pesticides sur les sols cultivés peut avoir un impact significatif sur la flore microbienne du sol mais celui n'est bien souvent pas évalué. Des études ont tenté d'estimer ce risque, conduisant à des résultats variables, d'une molécule ou d'un sol à l'autre. L'impact des herbicides semble toutefois limité à de faibles concentrations. Hart (1995) et Beulke et Malkomes (2001) n'ont pas pu montrer respectivement d'effet des principes actifs quinmerac et metazachlor sur les communautés microbiennes du sol. De même, un traitement au napropamide n'a présenté qu'un impact très limité dans le temps (Guo *et al.*, 2009) voir aucun effet (Mrazek *et al.*, 1984) sur la biomasse microbienne et l'activité microbienne. A l'inverse, certains traitements herbicides peuvent accroître l'accumulation de NO_2^- par les plantes, et de surcroît les émissions de N_2O (Lifeng *et al.*, 2000).

Les fongicides sont également connu pour avoir un potentiel effet négatif à court terme sur les communautés microbiennes, notamment sur les communautés nitrifiantes (Fig. I.19).

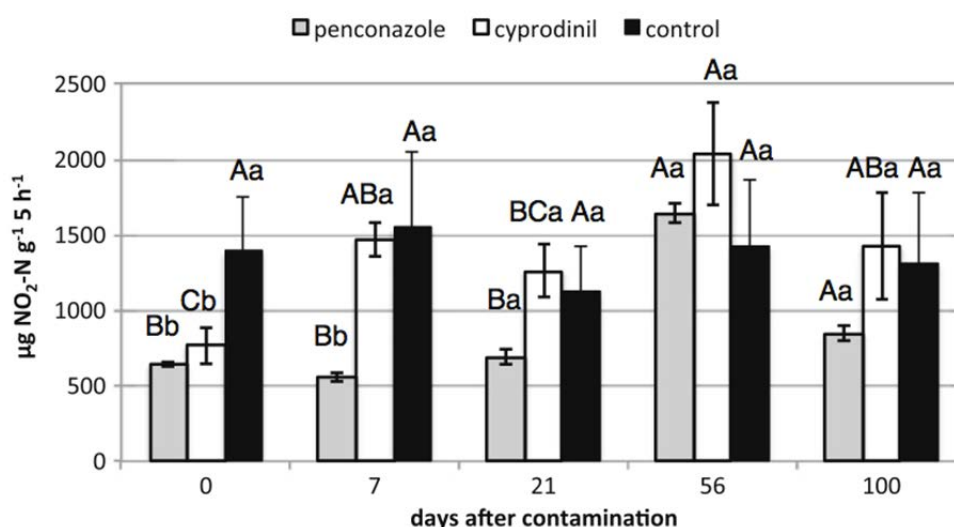


Figure I.19 : Estimation de l'activité nitrifiante potentielle après un traitement fongicide au penconazole et cyprodinile (Puglisi *et al.*, 2012).

A plus forte raison, une simple application de la dose réglementaire de certains fongicides peut impacter les communautés microbiennes et réduire la production de N₂O (Kinney *et al.*, 2005). Certaines études ont même reporté la propriété inhibitrice de la nitrification de certaines molécules fongicides (Kukreja et Mishra, 1987), en revanche celles-ci ne sont plus utilisées aujourd'hui. Cependant, selon les produits utilisés, les effets peuvent grandement différer. A concentrations hautes égales, un fongicide pourra parfois stimuler la dénitrification tandis qu'un autre aura tendance à l'inhiber (Somda *et al.*, 1991).

Les résultats concernant les insecticides sont encore plus contrastés. Certaines molécules telle que la deltaméthrine ne semble pas avoir d'impact sur les communautés microbiennes (Cycon *et al.*, 2006). La cyhalothrine a été reportée comme potentiellement altératrice de la structure des communautés microbiennes et ayant un impact positif sur le mécanisme de nitrification (Lupwayi *et al.*, 2009). L'impact sur la flore microbienne du sol de la plupart des molécules (par ex. alphasécyprène, thiaclopride, boscalid, prothioconazole) reste cependant sans aucune évaluation dans la littérature.

I.2.5. Quelles sont les méthodes disponibles pour estimer ces émissions de N₂O par les sols?

Pour mesurer les flux de N₂O produits par les sols, les méthodes les plus couramment employées sont les méthodes micrométéorologiques et celles dites « des chambres au sol »

(Hénault *et al.*, 2012), chacune avec leurs limites respectives (Laville *et al.*, 1997; Rochette, 2011; Hénault *et al.*, 2012).

Par ailleurs, ces méthodes sont complémentaires (Hénault *et al.*, 2012). Les méthodes utilisant des chambres au sol, permettant de faire des mesures sur des surfaces de quelques ares, sont particulièrement utiles pour comparer l'effet des pratiques agricoles sur les émissions des biogaz. Les méthodes micrométéorologiques, intégrant les flux au niveau de la parcelle agricole, sont particulièrement adaptées pour mesurer les émissions dans des situations représentatives du fonctionnement des agroécosystèmes.

1.2.5.1. Les méthodes « des chambres au sol »

Leur principe est de confiner les échanges entre le sol et l'atmosphère dans un volume d'air donné afin d'accumuler le gaz émis. Le plus souvent, on insère une embase dans le sol sur laquelle un couvercle est fixé au moment de la mesure (Fig. I.20). Ces chambres couvrent généralement une zone de 0.01 à 1 m² de sol (Livingston and Hutchinson, 1995).

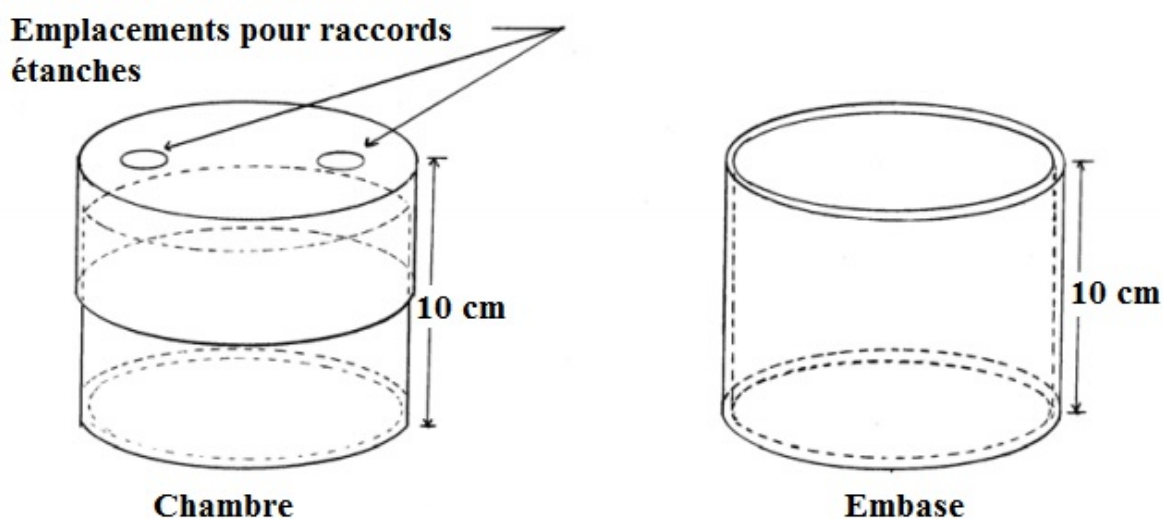


Figure I.20 : Chambre au sol de type système fermé (d'après Parkin et Venterea, 2010).

On distingue cependant 2 types de chambres : les systèmes fermés pour lesquels il n'y a pas de remplacement d'air dans le volume de la chambre lors des mesures, et les systèmes ouverts pour lesquels on impose un flux d'air constant à l'intérieur de la chambre.

Pour les systèmes fermés (Fig. I.20), les flux sont calculés à partir de la cinétique d'augmentation de la concentration dans la chambre au cours du temps suivant l'expression :

$$F = \frac{V}{A} \cdot \frac{\Delta C}{\Delta t}$$

avec : F = flux gazeux ($\text{g m}^{-2} \text{s}^{-1}$ d'éléments), V = volume d'air de la chambre (m^3), A = surface au sol circonscrite par la chambre (m^2), $\Delta C/\Delta t$ = évolution de la concentration du gaz à l'intérieur de la chambre au cours du temps ($\text{g m}^{-3} \text{s}^{-1}$ d'éléments).

L'analyse du gaz est réalisée généralement au laboratoire en chromatographie en phase gazeuse (CPG) équipé d'un détecteur à capture d'électrons (ECD) pour le N_2O .

Pour les systèmes ouverts (Fig. I.21), le flux F ($\text{g dm}^{-2} \text{s}^{-1}$ d'éléments) est communément estimé à partir de l'écart de concentration entre l'air entrant (C_e) et l'air sortant (C_s) de la chambre (Reichman et Rolston, 2002) :

$$F = \frac{Q \cdot [C_s - C_e]}{A}$$

avec : C_e et C_s , respectivement les concentrations dans l'air entrant et sortant de la chambre (g m^{-3} d'éléments), Q, le débit d'air à l'intérieur de la chambre ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) et A, la surface émettrice (m^2).

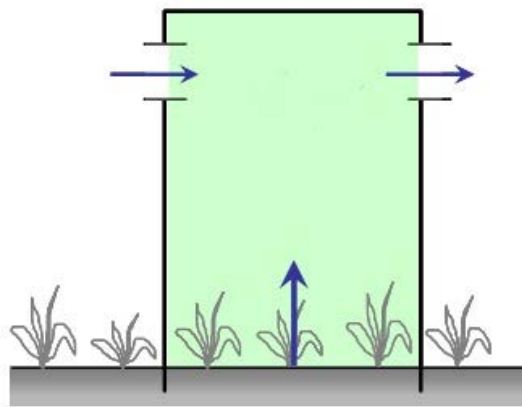


Figure I.21 : Chambre au sol de type système ouvert (d'après Pape *et al.*, 2009).

Les chambres au sol ont longtemps et sont encore souvent utilisées dans une configuration manuelle, le prélèvement des échantillons étant effectué manuellement avant analyse au laboratoire (Rochette et Bertrand, 2003). Dans cette configuration, l'inconvénient principal de ces méthodes des chambres au sol est qu'elles ne permettent que des mesures ponctuelles dans le temps.

Dans l'optique d'augmenter la résolution de ces mesures, des prototypes de chambres automatisées ont été présentées à partir du début des années 90 (Arah *et al.*, communication personnelle; Conrad *et al.*, 1983; Schutz *et al.*, 1989), utilisant les CPG comme analyseurs. Une seconde génération de chambres automatiques a vu le jour avec le développement d'analyseurs par spectrométrie infrarouge (Yamulki et Jarvis, 1999; Nishimura *et al.*, 2015). Cette automatisation des dispositifs de mesure, permet aujourd'hui la réalisation de mesures en semi-continu et une meilleure prise en compte de la variabilité temporelle (Laville *et al.*, 2011).

I.2.5.2. Les méthodes micrométéorologiques

Les méthodes micrométéorologiques (Fig. I.22) les plus utilisées sont les méthodes « eddy covariance (EC) », « relaxed eddy accumulation (REA) » et par gradient de flux (Jones *et al.*, 2011). Elles requièrent cependant des mesures continues et à haute fréquence (Kroon *et al.*, 2007). Le développement des détecteurs à diode laser et à laser à cascade quantique a ainsi permis le développement de ces méthodes et de leurs applications sur divers écosystèmes terrestres (Wang *et al.*, 2013).

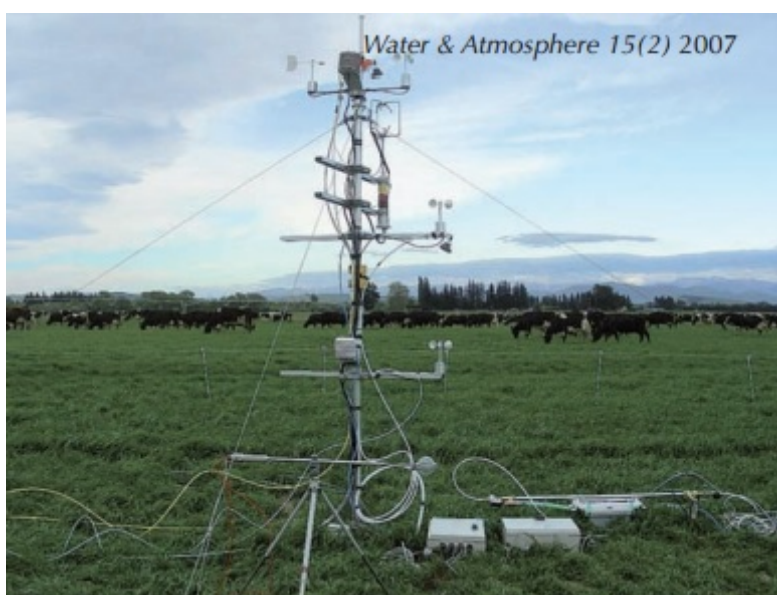


Figure I.22 : Exemple de dispositif de mesure micrométéorologique du N₂O (Crédit photographique : Mike Harvey).

La méthode EC relève de la mesure directe dans l'atmosphère de la vitesse du vent vertical et de la concentration en N₂O (Laville *et al.*, 1997; Pattey *et al.*, 2007). Cette méthode permet d'estimer les flux de gaz à l'échelle de la parcelle et a souvent été utilisée en parallèle des

méthodes des chambres (Christensen *et al.*, 1996; Laville *et al.*, 1999; Kroon *et al.*, 2007), rapportant des estimations comparables du niveau d'émissions de N₂O par les sols (Fig. I.23).

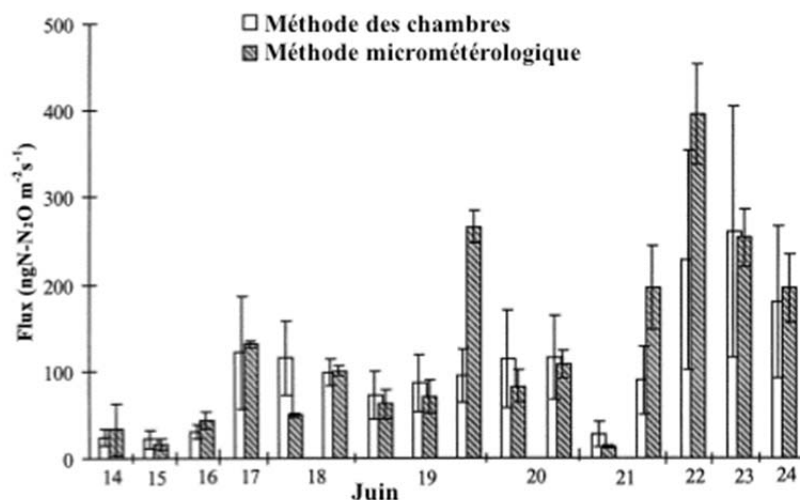


Figure I.23 : Comparaison de mesures de flux de N₂O par la méthode des chambres au sol et la méthode micrométéorologique (Laville *et al.*, 1999).

La méthode par gradient de flux, permet de couvrir des parcelles agricoles (WagnerRiddle *et al.*, 2007) voire une zone légèrement plus grande. Cette méthode implique de réaliser des mesures de la vitesse du vent, de la température et de la concentration en N₂O (Laville *et al.*, 1997). Cette méthode est généralement associée à l'équipement en appareil d'une tour de mesure (Pattey *et al.*, 2007), dont la hauteur définit la zone de couverture.

La méthode REA permet de couvrir efficacement des zones agricoles de plusieurs km², notamment à l'aide d'appareils de mesures embarqués sur avions (Pattey *et al.*, 2007; Desjardins *et al.*, 2010).

I.2.6. Prédiction des émissions de N₂O par les sols agricoles

Dans la mesure où les émissions de N₂O par les sols ne peuvent pas systématiquement être mesurées précisément, notamment en raison des contraintes matérielles, il est indispensable de recourir à des simulations pour les estimer (Frolking *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 2008). Pour estimer les émissions de N₂O à l'échelle d'une région ou d'un pays, la méthode préconisée par l'IPCC (2006) est le recours aux facteurs d'émissions. Cependant, au-delà de son intérêt quantitatif, le développement de modèles permet de tester notre compréhension de ces émissions de N₂O et de leur régulation par les paramètres environnementaux et les pratiques agricoles (Gabrielle *et al.*, 2006; Rafique *et al.*, 2011).

1.2.6.1. Les facteurs d'émissions

À l'échelle mondiale, la méthode la plus fréquemment utilisée pour estimer les émissions de N₂O est le calcul à partir de facteurs d'émission. Basée sur une relation globale entre les entrées d'azote dans les sols et l'intensité des émissions, leur utilisation nécessite dans un premier temps l'estimation des quantités d'azote, notamment par fertilisation azotée minérale et organique, apportée dans les sols. Plusieurs études ont permis de situer le facteur d'émission moyen à environ 0.9 % de l'azote apporté (Stehfest et Bouwman, 2006 ; Novoa et Tejeda, 2006). Par défaut le pourcentage recommandé par l'IPCC ayant été fixé à 1% (IPCC, 2006). Cependant ces facteurs d'émission sont parfois plus ou moins représentatifs. A une échelle locale, ils peuvent présenter une grande variabilité en fonction des conditions climatiques, des cultures, des itinéraires techniques et de la nature des fertilisants azotés apportés (Lesschen *et al.*, 2011). Ces facteurs d'émission sont également utilisés dans des outils de diagnostic adaptés à la taille d'une exploitation (par ex., analyse de cycle de vie, Indigo®, DiaTerre®), ou d'un paysage agricole, lorsque la précision n'est pas tant primordiale que la rapidité et la simplicité de calcul.

1.2.6.2. Les modèles de prédiction des émissions

Différents modèles permettent de simuler des flux de N₂O par les sols, certains ayant déjà été présentés et discutés dans des synthèses (Frolking *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 2008). Ces modèles reposent sur la description fine d'une sélection de processus microbiens et physicochimiques intervenant dans la production du N₂O par les sols (modèle mécaniste) et/ou sur une étude au préalable au champ des émissions et des facteurs de régulation choisis (modèle empirique). Chaque modèle dispose cependant d'une structure et de domaines d'application propres.

Certains modèles permettent d'effectuer une simple simulation des flux de N₂O, par ex. NOE (Hénault *et al.*, 2005), NLOSS (Riley and Matson, 2000), tandis que d'autres, plus complexes, simulent différents paramètres biogéochimiques du sol avant d'estimer les émissions de N₂O, par exemple DAYCENT (Parton *et al.*, 2001), DNDC (Li *et al.*, 1992).

De la même manière, certains modèles permettent d'évaluer les émissions de N₂O à l'échelle d'une parcelle agricole, par ex. NOE (Hénault *et al.*, 2005), ou d'un site agricole, par ex. FASSET (Olesen *et al.*, 2002), tandis que d'autres permettent d'estimer les émissions à l'échelle d'une région ou d'un continent, par ex. DNDC-Europe (Li *et al.*, 1992 ; Leip *et al.*, 2008).

La plupart des simulations sont cependant conduites à l'échelle de la parcelle agricole (Chen *et al.*, 2008). A cette échelle, il est possible de paramétrer les modèles finement, afin de prendre en compte les conditions climatiques (par ex. précipitations, température, vitesse du vent), les paramètres du sol (teneur en azote minéral, teneur en carbone, densité), l'itinéraire technique conduit sur la parcelle et/ou des potentiels d'activités biologiques. La prise en compte des spécificités inhérentes à chaque site, en tant que données d'entrée dans les modèles peut améliorer la qualité des simulations (Marchetti *et al.*, 1997; Hergoualc'h *et al.*, 2009). Cela permet également à certains modèles de s'affranchir plus facilement des conditions de terrain dans lesquels ils ont été développés et d'être efficaces dans d'autres contextes (Tableau I.3).

Tableau I.3 : Comparaison entre simulations de flux de N₂O par différents modèles (kg N₂O-N ha⁻¹ an⁻¹) (d'après Frolking *et al.* 1998).

Type	Lieu	CENTURY	DNDC	Expert N	NASA/CASA	Observation
Pâturage	U.S.	0.08	1.4	0.13	0.044	0.13
Prairie	Ecosse	3.8	2	2.9	2.4	2.8
Prairie	Ecosse	4.2	0.9	3.3	2.4	4.1
Sol cultivé	Allemagne	4.8	1.9	2.2	–	9.4
Sol cultivé	Allemagne	7	3	4.4	–	16.8

Chapitre II

Cadre expérimental

II.1. SITE EXPERIMENTAL

L'étude a été conduite sur l'Unité expérimentale de l'INRA Dijon-Epoisses située à 20 km de Dijon, dans l'est de la France (47°20'N, 5°2'E). Le site bénéficie d'un climat semi-continentale, avec environ 770 mm de précipitations annuelles et une température moyenne annuelle de 10.5°C.

II.1.1 L'essai PIC-Adventices

L'essai système étudié a été mis en place en 2000 afin d'évaluer la faisabilité de systèmes de culture en protection intégrée contre les adventices (PIC-Adventices) à faible dépendance en herbicides sur la base d'une analyse multicritère (Munier-Jolain *et al.*, 2009). Dans un premier temps, il s'agissait d'évaluer la performance des systèmes sur leur capacité à gérer les adventices avec des recours réduits aux herbicides (réduction de 25 à 100% des quantités appliquées par rapport à la conduite de référence), ce qui a été établi après une étude sur une période de six ans (Chikowo *et al.*, 2009). Par la suite, la performance des systèmes a été évaluée sur des critères sociaux et économiques, conduisant à une viabilité dépendant à la fois des économies réalisées sur la lutte chimique et avec une meilleure gestion de l'azote, à plus forte raison dans le cas d'un plan d'aide publique (Pardo *et al.*, 2010; Munier-Jolain et Dongmo Ngoutsop, 2010). Enfin, une analyse de cycle de vie a été réalisée pour les systèmes de culture étudiés, afin de caractériser l'empreinte environnementale des systèmes, théoriquement améliorée grâce à la protection intégrée des cultures (Deytieux *et al.*, 2012).

II.1.2. Les systèmes de culture mis en place

L'essai PIC-Adventices se compose de 2 blocs permettant d'avoir 2 répétitions de chaque système étudié, installés sur les ilots A et D du site expérimental (Fig. II.1). Chacun de ces ilots comprend 5 systèmes mis en place sur des parcelles d'environ 1.7 ha chacune, un système de référence (S1) et 4 systèmes en protection intégrée contre les adventices (S2, S3, S4, S5). Les spécificités de chacun des systèmes sont détaillées dans le tableau II.1.



Figure II.1 : Vue aérienne des ilots A et D du site expérimental INRA Dijon-Epoisses.

Tableau II.1 : Spécificités des systèmes de culture de l'essai PIC-adventices.

Système	Description
S1	Référence locale conventionnelle ; Nombre de labour par an : 1 IFTH moyen : 2.4 ¹ ; Rotation : colza - blé - orge
S2	Travail superficiel jusqu'en 2007. Semis direct depuis 2008. Nombre de labour par an : 0 IFTH moyen : 1.3 ¹ Rotation diversifiée ²
S3	Sans désherbage mécanique ; Nombre de labour par an : 0.4 IFTH moyen : 1.4 ¹ ; Rotation diversifiée ²
S4	Avec désherbage mécanique ; Nombre de labour par an : 0.4 IFTH moyen : 0.8 ¹ ; Rotation diversifiée ² + légumineuse
S5	Sans herbicide et avec désherbage mécanique. Nombre de labour par an : 0.5 ; IFTH moyen : 0 ¹ ; Rotation diversifiée ²

¹ Deytieux et al., 2012 ; ² succession type : colza - céréale d'hiver - culture de printemps - céréale d'hiver - culture d'été - céréale d'hiver.

Concrètement, pour réduire la dépendance aux herbicides des systèmes PIC, diverses combinaisons de pratiques agronomiques sont mises en œuvre. La diversification des rotations (par ex. ajout d'une légumineuse), la sélection de variétés compétitives (par ex. surface foliaire importante) ou encore les semis à haute densité, rapprochés ou tardifs, permettent d'améliorer la compétitivité des cultures vis-à-vis des espèces adventices. Dans le même temps, la gestion du travail du sol (par exemple. travail du sol superficiel et semis direct), les faux semis ou le désherbage mécanique permettent de gérer le stock de graines adventices et les levées d'adventices.

II.1.3. Préparation à la mise en place des dispositifs de mesure

Dans le souci de proposer un suivi des émissions en continu des émissions de N_2O par les systèmes de culture, un dispositif automatique de mesure a été mis en place au champ. L'installation de ce dispositif a nécessité le raccordement électrique des parcelles, rendant impossible l'équipement des deux îlots, séparé de près de 1 km. De par cette contrainte technique, il a été choisi de n'équiper que l'îlot A et de travailler ainsi sans répliques des systèmes. Par ailleurs, de par le placement des deux coffrets électriques, chacun à l'interface entre deux parcelles séparées par une bande enherbée, seuls quatre systèmes pouvaient être couverts par le dispositif (Fig. II.2). La mise en place des deux coffrets s'est faite en deux temps. Le premier a été installé entre les systèmes S1 et S3 en mai 2011 ; il s'agissait alors de couvrir en priorité le système de référence S1. Après le temps nécessaire à la fabrication du deuxième coffret, son installation a été effectuée en mars 2012, entre les systèmes S2 et S5, de sorte que le dispositif couvre un maximum de systèmes. L'autre option, couvrant le système S4, aurait conduit à une double couverture du système S3. En définitive, seuls les systèmes S1, S2, S3 et S5 de l'îlot A ont été couverts et seront traités au cours de cette étude.



Figure II.2 : Dates de mise en place des coffrets dans la bande enherbée entre les systèmes S1-S3 et S2-S5 de l'îlot A.

II.1.4. Caractérisation des sols de la zone d'étude – îlot A

Les systèmes de culture ont été mis en place sur un sol argilo-calcaire, d'une teneur en argile supérieur à 35% et d'une profondeur moyenne de 90 cm. A l'échelle du site expérimental, le sol montre de nombreuses hétérogénéités, certaines se retrouvant au sein de l'îlot A, malgré les cultures d'homogénéisation installée sur l'ensemble de l'îlot en prévention. Les analyses de sol réalisées sur les quatre systèmes en décembre 2011 ont montré notamment une teneur en carbone plus importante dans le système S2 (Table II.2).

Table II.2: Teneur en carbone dans l'horizon 0-30 cm des sols des quatre systèmes de culture.

	Unité ¹	S1	S2	S3	S5
Teneur carbone organique	g C kg ⁻¹	16.9 ± 2.1	22.5 ± 3.8	18.6 ± 1.3	18.6 ± 1.7

¹ exprimé sur une base de terre sèche

Cependant, en l'absence de point de mesure antérieur selon un protocole standardisé, il est impossible de conclure à un potentiel enrichissement en carbone du système S2 depuis la mise en place des techniques culturales simplifiées. Par ailleurs, la prise en compte de ces hétérogénéités a été contrainte par le dispositif technique. La longueur des câbles étant limitée, la variabilité intra parcelle n'a pu être couverte dans son intégralité.

II.2. DISPOSITIF DE MESURES AUTOMATISEES

II.2.1. Coffrets de commande et de mesure

Le dispositif de mesure mis en place sur le site comprend deux coffrets électriques indépendants (Fig. II.3). Chacun de ces coffrets contient une centrale d'acquisition de données (Campbell® CR1000), des automates actionnant l'ouverture et la fermeture des chambres, un analyseur infrarouge (Licor® Li-820) du CO₂, un analyseur infra-rouge du N₂O (Megatec® 46i) et un onduleur afin de préserver la continuité des mesures en cas de coupure de courant. Ils sont également raccordé à 8 sondes de température (Campbell® 107) et 8 sondes TDR (Campbell® CS 616) et 12 chambres de mesures automatiques.



Figure II.3 : Coffret électrique mis en place dans la bande enherbée.

II.2.2. Capteurs d'humidité et de température

Au cours de notre étude, les capteurs de température et d'humidité ont été placés à 2 horizons différents pour chacun des sols (à -5 et -20 cm de profondeur), avec 2 répétitions (Fig. II.4) en bordure de chaque parcelle. Les 2 capteurs ont été programmés pour enregistrer une valeur moyenne 12 fois par jour, à partir d'un temps de scrutation de 5 minutes.

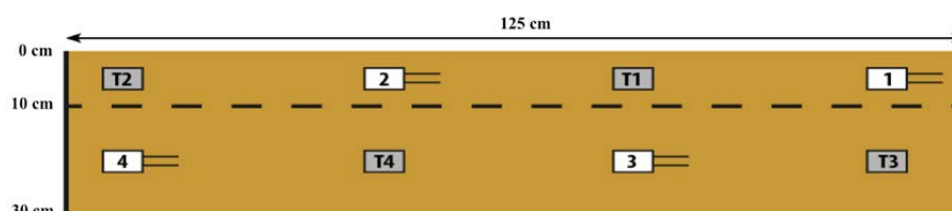


Figure II.4 : Disposition type des sondes TDR (blanc) et température (gris).

II.2.3. Chambre de mesure automatisée

Les chambres automatiques, spécifiquement conçues pour cette étude, présentent respectivement une largeur, une longueur et une hauteur de 70 cm, 70 cm et 30 cm (Fig. II.5).

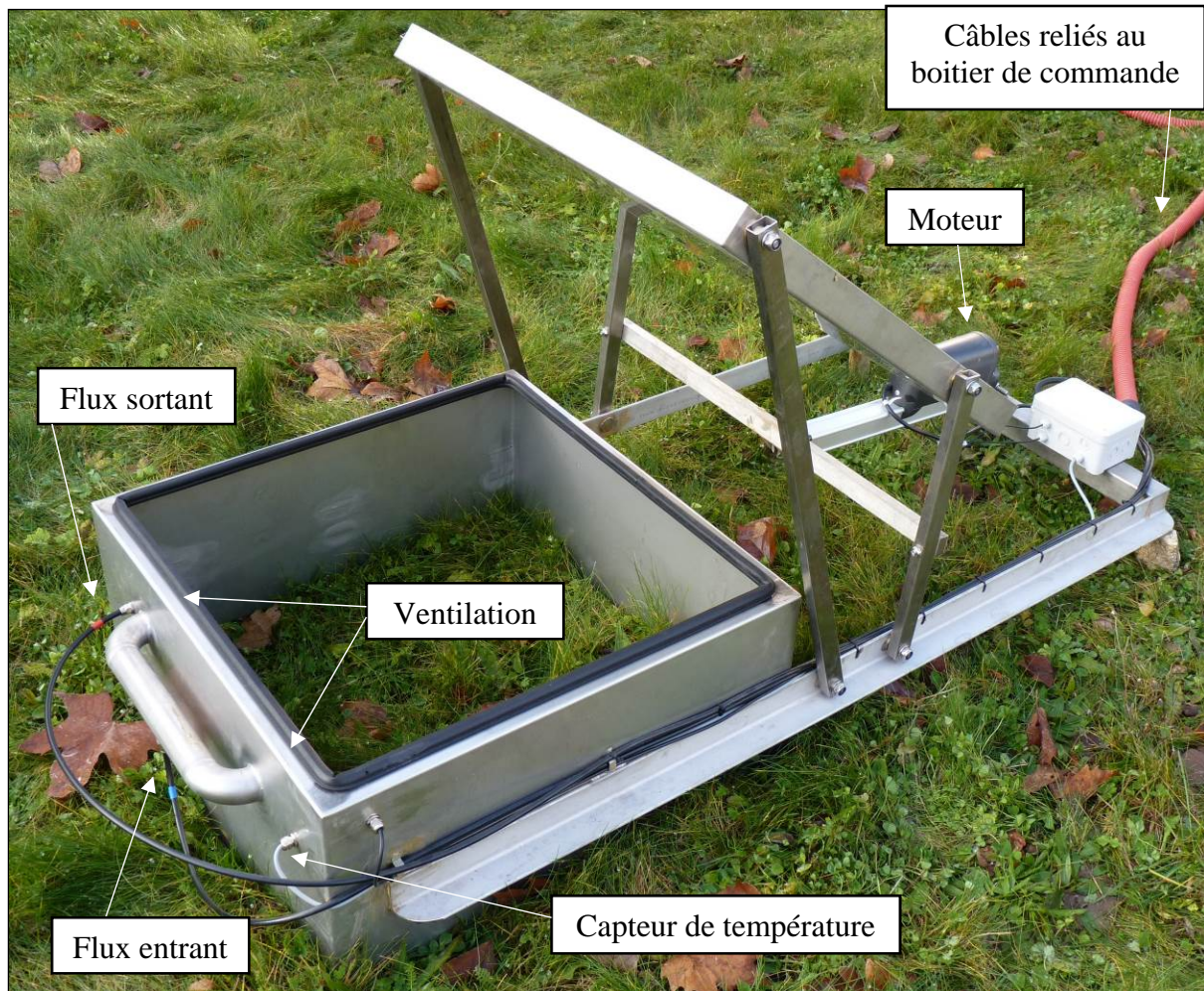


Figure II.5 : Chambre de mesure automatisée.

Les chambres ont été placées dans un rayon de 25 m autour des coffrets électriques, à raison de 6 répétitions par système (Fig. II.6).



Figure II.6 : Disposition type des chambres de mesure à l'intérieur du système S1.

Afin d'éviter toute fuite pendant les mesures, les chambres ont été enfoncées de 10 cm dans le sol, donnant un volume total de l'atmosphère de 98 L lors de leur fermeture. Lors des différentes interventions liées notamment au travail du sol, les chambres étaient si besoin retirées des parcelles le temps nécessaire et replacées au même endroit. Les chambres ont été programmées pour se fermer hermétiquement 4 fois par jour chacune (toutes les 6 heures), pendant 20 minutes, permettant de mesurer l'augmentation de la concentration en N_2O à l'intérieur de l'enceinte.

II.2.4. Analyseurs N_2O

Les analyseurs N_2O Megatec[®] 46i permettent d'évaluer des teneurs en N_2O dans l'atmosphère entre 0 et 50000 ppb. Dans notre étude, ils ont cependant été calibrés pour une échelle de concentrations entre 0 et 2000 ppb. Ces appareils sont équipés d'une pompe (1 L s^{-1}) qui permet l'acheminement des échantillons gazeux depuis les chambres de mesure jusqu'à leur cellule de mesure. Le pas de temps de mesure a été défini de manière à mesurer la cinétique d'évolution de la concentration en N_2O à l'intérieur de la chambre toutes les 20 s pendant les 20 min de fermeture de celle-ci. Ces données ont été enregistrées dans la centrale d'acquisition et récupérées par la suite une fois par semaine. Les vitesses d'émission de N_2O ont été calculées à partir de la pente de la régression linéaire liant concentrations en N_2O mesurées au cours du temps dans l'atmosphère des chambres et le temps de mesure (20 min soit 1200 s) (Fig. II.7).

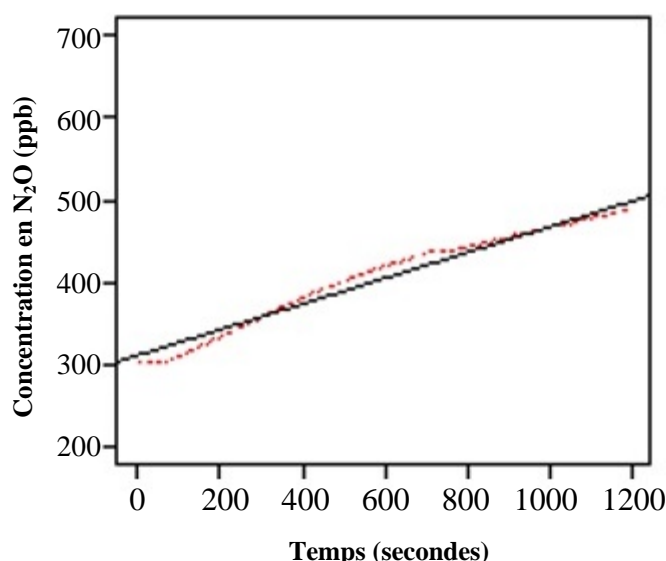


Figure II.7 : Exemple de cinétique des concentrations en N_2O sur 20 minutes.

Le seuil de détection a été estimé d'après la méthode décrite par Laville *et al.* (2011) à 0.2 g N-N₂O ha⁻¹ jour⁻¹. Pour un système de culture donné, le flux journalier de N₂O a été calculé comme étant la moyenne des 24 vitesses d'émissions mesurées chaque jour (6 enceintes x 4 mesures journalières), convertie en g N-N₂O ha⁻¹ jour⁻¹.

II.3. DONNEES CLIMATIQUES

Les données climatiques ont été mesurées directement sur le site expérimental au moyen de la station météorologique INRA de Bretenière. Les données ont été recueillies et mises à disposition par le service INRA CLIMATIK (<https://intranet.inra.fr/climatik/do/climatik>). Plusieurs variables climatiques ont été utilisées au cours de l'étude, notamment les précipitations, la température de l'air, le rayonnement, la vitesse du vent et l'humidité de l'air, toutes avec un pas de temps journalier.

II.4. MESURES EFFECTUEES EN LABORATOIRE

Une partie des expérimentations sur les sols des systèmes a été réalisé sur des échantillons au laboratoire. Le suivi de certains paramètres environnementaux sur l'horizon superficiel du sol (0-30 cm), telles que les teneurs en azote ou la densité apparente, ont notamment requis l'utilisation d'une tarière et d'un anneau de densité. Par ailleurs les potentiels d'activité microbienne (dénitrification, réduction N₂O) ont également été réalisés en laboratoire sur des échantillons prélevés *in situ*.

II.4.1. Densité apparente

La densité apparente des sols a été mesurée à 3 reprises sur les systèmes au cours de l'étude (printemps 2011, 2012 et 2013). Les prélèvements de sol ont été réalisés à l'aide d'anneaux de densité à volume standardisé. Les échantillons de sol étaient ensuite pesés avant et après un séchage à 105°C pendant 24 h.

II.4.2. Suivi des teneurs en azote minéral du sol

Des échantillons de sol ont été prélevés une fois par mois sur l'horizon 0-30 cm dans chaque système, afin de réaliser une extraction d'azote minéral NO₃⁻ et NH₄⁺. L'extraction était réalisée au moyen d'une solution de KCL (1 M), puis filtrée à l'aide d'un filtre Whatman® 40. Les filtrats étaient ensuite congelés puis analysés par colorimétrie au laboratoire LDAR à Laon (02) ou à AgroSup Dijon.

II.4.3. Abondance des gènes impliqués dans les émissions de N_2O

Une partie de ces mêmes échantillons a également été tamisée à 2 mm puis congelée. Ces sous échantillons ont par la suite été analysés en PCR quantitative. Les abondances de 7 gènes ont été quantifiées à 6 reprises sur 7 mois de mesure pour les systèmes S1 et S3. Deux gènes ont été utilisés pour approcher la taille globale des communautés bactérienne (16S) et archéenne (CRE). Leur quantification a été réalisée selon Ochsenreiter *et al.* (2003). Les gènes nirS, nirK et nosZ ont été quantifiés afin de caractériser les communautés dénitrifiantes selon Bru *et al.* (2007) et Henry *et al.* (2006). Les gènes AOA et AOB caractérisant les communautés nitrifiantes ont été quantifiés selon Leininger *et al.* (2006) et Tourna *et al.* (2008).

II.4.4. Potentiels d'activité microbienne

Deux potentiels d'activités microbiennes ont été caractérisés sur chacun des systèmes : le potentiel de dénitrification et la capacité du sol à réduire le N_2O en N_2 .

II.4.4.1. Dénitrification potentielle des sols (D_P)

Afin d'estimer le potentiel de dénitrification selon le protocole défini par Hénault et Germon (2000), huit carottes de sol non déstructuré ont été prélevées dans chaque système. Des cylindres en acier inoxydable de volume connu (longueur 25 cm, diamètre 10 cm) ont été utilisés pour réaliser les prélèvements (Fig. II.8).

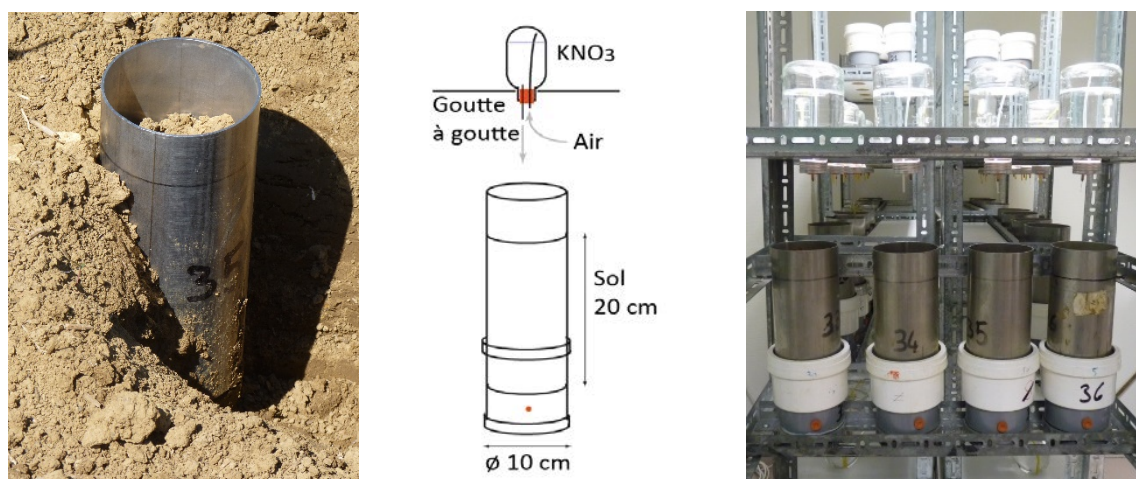


Figure II.8 : Prélèvement des cylindres (gauche) et système de percolation au goutte à goutte de la solution de KNO_3 schématique (centre) et réel (droite).

Les cylindres ont ensuite été placés en incubation à 20°C au laboratoire pendant 24 h pour permettre au sol de s'acclimater. Le jour suivant, les échantillons de sol ont reçu une solution de KNO_3 0.1 M. Cet apport se fait au goutte à goutte sur une durée de 24 heures, imitant une

pluie fine de 60 mm (Fig. II.8). Cette étape permet au sol de s'imprégner de la solution, l'enrichissant en nitrate et assurant une PPOE favorable à la dénitrification. Une fois l'apport de solution terminé, les cylindres ont été placés en condition de drainage naturel pendant une nouvelle période de 24 heures. Un tissu humidifié est placé sur le dessus des cylindres pendant cette étape, empêchant l'assèchement superficiel des cylindres. Le lendemain, après évacuation de l'excédent d'eau, les sols demeuraient suffisamment saturés en eau (PPOE > 81%).

Les cylindres ont ensuite été fermés hermétiquement. Chacun ont reçu une injection de 5 mL de krypton afin de tester l'éventuelle présence de fuites. L'air des cylindres a ensuite été homogénéisé à l'aide de pompes, connectées à la base et sur le dessus des cylindres pendant 5 min. Le premier prélèvement de gaz a été effectué immédiatement après cette homogénéisation. Les trois prélèvements suivants ont respectivement eu lieu après 1, 2 et 3 heures, et systématiquement après homogénéisation.

Après cette première série de prélèvements, les cylindres ont été aérés, et refermé hermétiquement, pour débiter une nouvelle série de prélèvements. Cette fois-ci, avant l'injection des 5 mL de krypton, 50 mL d'air des cylindres ont été remplacé par 50 mL d'acétylène. L'acétylène a été apporté en quantité suffisante pour inhiber la réduction du N_2O en N_2 et la nitrification (Yoshinari et Knowles, 1977). Les quatre prélèvements gazeux ont été effectué dans les mêmes conditions, c'est à dire après homogénéisation et au bout de 0, 1, 2 et 3 heures.

Les cylindres ont ensuite été vidés et l'humidité massique des sols a estimée, afin d'évaluer les conditions de PPOE dans lequel ils se trouvaient.

Les échantillons de gaz ont ensuite été analysés par chromatographie en phase gazeuse, au moyen d'un appareil Varian[®] Star 3400CX, équipé d'un détecteur en capture d'électrons (ECD) et d'une colonne remplie porapak Q (Fig. II.9).



Figure II.9 : Varian® Star 3400CX couplé à un préleveur automatique.

La régression entre le temps d'accumulation (3 heures) et l'augmentation des concentrations en N_2O dans les cylindres mesurées a permis d'obtenir la vitesse de dénitrification (D_A). Cette vitesse est dite « amplifiée » car stimulée artificiellement pour l'étude. Le calcul de la dénitrification potentielle (D_P) a ensuite été effectué selon la fonction F_W de Grundmann et Rolston (1987) :

$$D_P = \frac{D_A}{F_W}$$

avec : $F_W = [(PPOE - 0.62)/0.38]^{1.74}$

II.4.4.2. Capacité du sol à réduire le N_2O (R_{max})

La capacité à réduire le N_2O en N_2 des sols a été estimée selon la méthode proposée par Hénault *et al.*, (2001). Des échantillons de sol frais, tamisés à un diamètre 5 mm, ont été placés en incubation anaérobie, sous atmosphère N_2 . Quatre conditions d'incubations de sols ont été réalisées dans des fioles de 500 mL, incluant par fiole 50 g de sols frais (Fig. II.10).



Figure II.10 : Exemple d'une fiole de 500 mL pendant l'incubation (1) et de fioles sous vide permettant le prélèvement des échantillons gazeux (2).

Chaque condition d'incubation de sols a été réalisée avec 3 répétitions (total de 12 fioles). Deux des quatre types d'incubation de sols ont été conduites en présence d'un ajout de NO_3^- , sous forme de 50 mL d'une solution de KNO_3 à 100 mg N L^{-1} , (1) avec la présence d'acétylène (C_2H_2) dans le but de mesurer le potentiel de dénitrification totale et (2) sans acétylène dans le but de déterminer si la réduction du N_2O en N_2 se réalisait dans le sol. Les deux autres conditions d'incubation anaérobie ont été conduites en présence d'un ajout d'eau (50 mL) et de N_2O gazeux (5 mL), (3) avec la présence d'acétylène et (4) sans ajout d'acétylène dans le but de mesurer la capacité du sol à réduire le N_2O . Chaque fiole a également reçu une injection de 1 mL de krypton dans le but d'identifier les éventuelles fuites. Les différentes conditions d'incubations des sols sont synthétisées dans le tableau II.3.

Table II.3: Récapitulatif des conditions d'incubation

Fioles	Sol frais (g)	Solution (50 mL)	N_2O (mL)	C_2H_2 (mL)	Kr (mL)
1-2-3	50	$\text{KNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$	0	10	1
4-5-6	50	$\text{KNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$	0	0	1
7-8-9	50	H_2O	5	10	1
10-11-12	50	H_2O	5	0	1

L'incubation a été réalisée pendant 168 heures sur une table d'agitation à $120 \text{ tours min}^{-1}$. Au cours de cette période, le suivi des concentrations en N_2O , Kr, CO_2 et C_2H_2 a été réalisé par 6 prélèvements de gaz à l'aide de fioles sous vide (Fig. II.10), au bout de 0, 24, 48, 72, 96 et 168 heures.

Les échantillons de gaz prélevés ont également été analysés par chromatographie en phase gazeuse à l'aide d'un CPG (SRA Instruments) équipé d'un détecteur TCD.

Le calcul du R_{max} a été effectué ensuite par la formule suivante :

$$R_{\text{max}} = \text{Max}\{(\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2)_{Ti}\}/Ti$$

avec $(\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2)_{Ti}$ correspondant au ratio des émissions de N_2O ($\mu\text{g N-N}_2\text{O g}^{-1}\text{sol sec}$) à un instant T entre les flux des conditions 2 (apport NO_3^-) et 1 (apport $\text{NO}_3^- + \text{C}_2\text{H}_2$).

II.5. MODELISATION

Dans cette étude deux modèles de flux de N_2O ont été utilisés, DNDC et NOE. Il s'agissait de simuler les émissions de N_2O des 4 systèmes de culture entre 2012 et 2013 et de les confronter aux émissions observées. Les données environnementales mesurées durant cette même période ont été utilisées comme entrée dans les 2 modèles. Cette approche par modélisation devait nous permettre d'analyser les facteurs de régulation des émissions de N_2O et l'impact des pratiques agricoles sur leur intensité.

II.5.1. Le modèle DNDC (DeNitrification-DeComposition)

DNDC (DeNitrification-DeComposition) (Li *et al.*, 1992) est un modèle complexe simulant les cycles biogéochimiques des sols agricoles. Les simulations reposent sur plusieurs sous-modèles (Smith *et al.*, 2002) décrivant les principaux processus biologiques (par ex. nitrification, dénitrification, minéralisation), le climat du sol (par ex. teneur en eau, variation de température) et les cultures (croissance, répartition de la biomasse). Le modèle requiert 2 types de données pour effectuer les simulations, des données quotidiennes continues (climat, itinéraire technique) servant de données d'entrée aux sous modèles tout au long de la simulation et des données ponctuelles servant à paramétrer l'état initial du sol (par ex. densité, teneur en azote, point de flétrissement). Différentes variables de sortie peuvent être simulées avec un pas de temps journalier, comprenant notamment le flux émis de N_2O , la part de porosité occupée par l'eau ou la température du sol. Le modèle est communément utilisé comme en témoigne le nombre important de publications scientifiques et a déjà fait l'objet de validation dans diverses contextes pédoclimatiques (Smith *et al.*, 2002; Miehle *et al.*, 2006; Beheydt *et al.*, 2007; Rafique *et al.*, 2011).

II.5.2. Le modèle NOE (Nitrous Oxide Emissions)

NOE (Henault *et al.*, 2005) est un modèle d'émissions semi-mécaniste permettant la prédiction des émissions de N_2O à l'échelle de la parcelle. La simulation des émissions de N_2O résulte de la somme des flux simulés par deux sous-modèles. Ces deux modèles simulent respectivement l'activité dénitrifiante et nitrifiante du sol, à partir des potentiels d'activité microbienne pré-mesurés sur la parcelle étudiée, modulés par des fonctions empiriques reliant l'activité biologique aux conditions du sol (température, humidité, teneur en azote).

Les émissions de N₂O par dénitrification sont estimées suivant les formules suivantes :

$$N_2O_{\text{denit}} = r_{\text{max}} D_A$$

avec

$$D_A = D_P F_N F_W F_T$$

et r_{max} , la capacité du sol à réduire le N₂O, D_P , la dénitrification potentielle, F_N , F_W et F_T respectivement les fonctions rendant compte de l'effet de la teneur en nitrate, en eau et la température du sol sur la dénitrification (Hénault *et al.*, 2005).

Les émissions de N₂O par nitrification sont estimées selon la part de porosité occupée par l'eau du sol (PPOE) par les formules suivantes:

$$N_2O_{\text{nit}} = z N_A, \quad \text{PPOE} < 0.62$$

$$N_2O_{\text{nit}} = r_{\text{max}} z N_A, \quad \text{PPOE} \geq 0.62$$

avec

$$N_A = 0, \quad \text{PPOE} > 0.8$$

$$N_A = N_W N_{\text{NH}_4} N_T, \quad \text{PPOE} < 0.8$$

Et avec z , la proportion d'azote nitrifié émis sous la forme de N₂O, N_W , N_{NH_4} et N_T respectivement les fonctions rendant compte de la teneur en eau, en ammonium et la température du sol (Hénault *et al.*, 2005).

Le paramétrage spécifique à chaque site étudié a actuellement permis au modèle de simuler des flux réalistes dans divers contextes pédoclimatiques (Gabrielle *et al.*, 2006 ; Hergoualc'h *et al.*, 2009).

CHAPITRE III

Quelle est l'influence des systèmes de culture PIC-adventices sur la dynamique et l'intensité des émissions de N₂O ?

Impacts of integrated management in cropping systems on N₂O emissions from soil

A. Vermue^a, C. Hénault^b, A. Coffin^c, N. Munier-Jolain^c, B. Nicolardot^{a*}

^a AgroSup Dijon, UMR 1347, Agroécologie, 26 rue Dr Petitjean, BP 87999, 21079 Dijon cedex, France

^b INRA, UR 0272, Unité de Recherche en Science du Sol, 2163 Avenue de la Pomme de Pin, CS 40001 Ardon, 45075 Orléans cedex 2, France

^c INRA, UMR 1347, Agroécologie, 17 rue Sully, BP 86510, 21065 Dijon cedex, France

Keywords: cropping system, greenhouse gas, nitrous oxide, continuous measurement, no-till, denitrification.

* Corresponding author:

Bernard Nicolardot

AgroSup Dijon

UMR 1347 Agroécologie

26 Bd Docteur Petitjean

BP 87999

21079 Dijon Cedex, France

Tél.: +33 (0)3 80 77 23 48

Fax : +33 (0)3 80 77 25 51

Email: bernard.nicolardot@agrosupdijon.fr

Ce chapitre a été soumis pour publication à la revue Soil and Tillage Research.

Abstract

Aims

Integrated weed management, which allows reducing the reliance of cropping systems on herbicides, is based on the use of specific combinations of innovative agricultural practices. However, using alternative agricultural practices may also present environmental risks. Here, we assessed the risk for integrated weed management to alter the intensity of N₂O emissions in four cropping systems (i.e. conventional reference S1 and three integrated weed management treatment, S2, S3 and S5) as part of the evaluation of the environmental performance of the systems.

Methods

N₂O emissions were continuously measured using automated chambers coupled with infrared analysers over one year. To identify the main regulation factors of these emissions, main soil environmental parameters were monitored for the same period. Soil temperature and volumetric water content were continuously measured while soil inorganic N contents were estimated monthly. Both agricultural practices and pedoclimatic conditions effect on the intensity of N₂O emissions were investigated for all systems.

Results

Over the 256 days of measurement covering on agricultural year, N₂O emissions occurred mainly during fertilization periods and after rain events. However N₂O emissions significantly differed between systems. N₂O emissions from the reference system S1 remained low with cumulated emissions measured of 326 g N-N₂O ha⁻¹. The emissions were the highest for system S2 with 5526 g N-N₂O ha⁻¹ emitted. For system S3, emissions were lower and not different from the reference S1, with cumulated emissions measured of 177 g N-N₂O ha⁻¹. For system S5, emissions were lower than S2 but higher than that of S1 and S3, with cumulated emissions of 777 g N-N₂O ha⁻¹.

Conclusions

Climatic conditions appeared as the main regulation factor of N₂O emissions. However, the difference of emissions between systems suggests a strong impact of the agricultural practices introduced with the integrated weed management on N₂O emissions. For system S2, the conversion of the system in no tillage notably induced a significant increase of the N₂O emissions, equivalent to 0.7 t C-CO₂. This suggests also that in rainy year, the enhanced carbon sequestration for this system may be totally compensated by the N₂O emissions. N₂O

emissions appeared to be also affected by crop succession, especially when leguminous species are present.

III.1. Introduction

N₂O emissions from soils are the result of complex interactions between microbial communities structure and functioning, and soil conditions, as affected by climatic conditions and land uses (Skiba and Smith, 2000; Weitz *et al.*, 2001). The variety of pedoclimatic contexts and combinations of soil agricultural practices make their impacts on N₂O emissions difficult to study in croplands (Hénault *et al.*, 2012). Moreover, with the increase of food needs and environmental concerns, agriculture is currently facing new challenges (Matson *et al.*, 1997; Foley *et al.*, 2011) whose requiring the development of more sustainable cropping systems (Reganold *et al.*, 2001).

Integrated weed management (IWM) in cropping systems aims to lower the reliance on herbicides of the crops (Chikowo *et al.*, 2009) with limited economic and social impacts (Pardo *et al.*, 2008), while introducing new combinations of agricultural practices in the system development. These combinations may greatly change from a system to another and include a large variety of practices, such as false seed beds, late sowing, mechanical weeding, reduced tillage, specific crop rotations that alternate spring and winter crops, the choice of crop varieties and the use of pesticides with low ecotoxic impacts (Munier-Jolain *et al.*, 2009). However as part of the development of a more sustainable agriculture, the systems performances are not only evaluated on agronomical, economic and social criteria, but equally considering environmental dimension. Several implemented agricultural practices are likely to alter soil biogeochemical cycles (Cheneby *et al.*, 2009) and different components of the greenhouse gas budget (balance between the carbon sequestration and the greenhouse gas emission) of the system. Crops rotations are also reported as potentially affecting N₂O emissions from soils (Halvorson *et al.*, 2008; Vilain *et al.*, 2010), as well as application dates and level of nitrogen fertilization inputs (Van Groenigen *et al.*, 2010). Tillage, even superficial, is also largely reported in literature as affecting soil emissions of N₂O without carbon sequestration compensation (Nicolardot and Germon, 2008). No-tillage management is generally promoted to mainly sequestering carbon. Nevertheless due to important N₂O emission during the first years after a no-till conversion, benefits to mitigate global warming would appear only in the long term (Six *et al.*, 2004).

The main objectives of our study were to evaluate i) the N₂O fluxes emitted from soil during one year for 4 cropping systems (i.e. 3 IWM systems and a local reference of conventional system), and ii) to investigate the relationship between the measured fluxes and soil parameters and the agricultural practices of each system.

III.2. Materials and methods

III.2.1. Experimental site and design

The study was conducted at the INRA experimental farm of Dijon-Epoisses, eastern France, (47°20'N, 5°2'E). The climate is semi continental, with a mean annual temperature of 10.5°C and an average rainfall of 770 mm y⁻¹ and the soil is described as a 0.9 m depth calcisoil. The experimental site was set up in 2000 to assess the performance of four cropping systems based on Integrated Weed Management (IWM) compared to a reference standard system (Chikowo *et al.*, 2009). The original design of the experiment integrated two geographically distant blocks including all systems but only one of this block is currently electrified and therefore used in this study. The four investigated systems were about 1.7 ha each and separated by a grass strip. These systems differed in terms of crop rotations, soil tillage, mechanical and chemical weeding and crop management. Fewer herbicides were applied in IWM-based systems compared to the reference system, resulting in lower environmental impact. Main characteristics of the four cropping systems are detailed in the Table III.1.

Table III.1: Main characteristics of the 4 studied cropping systems.

Crop system	Acronym	Description
Reference system	S1	Designed to maximize financial returns. Use of chemical herbicides to control weeds. Moldboard plowing each year. Choice of herbicides according to recommendations of extension services. Crop rotation: winter wheat/winter barley/oilseed rape
IWM	S2	Minimum tillage between 2000 and 2007. No tillage since 2008. Time-consuming operations such as plowing, harrowing and mechanical weeding excluded. Treatment frequency index ¹ reduced by 25 %.
IWM	S3	Plowing and other tillage operations allowed when necessary for weed seedbed management but mechanical weeding is excluded. Treatment frequency index reduced by 50 %.
IWM	S5	Use of any herbicides excluded. Physical and cultural means are allowed to contain weed infestation.

¹ amount of pesticides spread per ha expressed in % of the standard approved dosages of pesticides per ha.

The first cropping system is the standard reference system (S1) designed to maximize financial returns, with emphasis placed on the use of chemical herbicides for weeds control. Moldboard plowing was carried out each year during summer, and herbicides were chosen in accordance with the recommendations of extension services or pesticides producers which must respect application rules defined by ANSES (French Agency of Food, Environmental and Occupational Health & Safety). The second system (S2) is an IWM system with no-tillage and direct seedling, with an herbicide treatment frequency reduced to one quarter in comparison with S1. The third system (S3) was an IWM system that allows for plowing and other soil tillage operations when necessary, according to field observations, for weeds seed bank management. Herbicide treatment frequency for S3 system was halved in comparison to the reference system S1. The last system studied (S5) is an extreme IWM system with no herbicide treatment that allows for tillage operation and other pesticides treatments when required, differentiating this system from organic farming. All the systems were studied during one year, between March 2012 and March 2013. The main agricultural operations are detailed in Table III.2 for the studied period.

Table III.2: Mean cultural operations for the 4 studied systems from autumn 2012 to spring 2013.

Cropping systems	S1	S2	S3	S5
Seedling	12 Oct. 2011 (Winter wheat)		24 Oct. 2011 (Winter wheat)	
Tillage	9 Sept. 2011			
Rolling	13 Oct. 2011	17 Jan. 2012		
Fertilization	28 Feb. 2012 (50 N) ¹	20 Feb. 2012 (108 Mg, 1083 Ca)	28 Feb. 2012 (50 N)	
Seedling		9 Mar. 2012 (Spring barley)		29 Mar. 2012 (Alfalfa)
Fertilization		9 Mar. 2012 (47 N, 6 P, 7 S)		
Rolling		12 Mar. 2012		
Herbicide ²	22 Mar. 2012	16 Mar. 2012	22 Mar. 2012	
Fertilization	3 Apr. 2012 (85 N)	17 Apr 2012 (84 N)	2 Apr. 2012 (90 N)	27 Apr. 2012 (42 S, 52.5 Mg)
Herbicide		7 May 2012		
Fungicide ³	10 May 2012		10 May 2012	
Fertilization	15 May 2012 (30 N)		15 May 2012 (25 N)	
Insecticide ⁴	27 May 2012		27 May 2012	
Fungicide ³		29 May 2012		
Fertilization				14 Jun. 2012 (3 S, 2 Mg)
Harvest	18 Jul. 2012	25 Jul. 2012	24 Jul. 2012	14 Jun. 2012 31 Jul. 2012
Tillage	20 Jul. 2012 30 Jul. 2012		26 Jul. 2012 20 Jul. 2012	
Seedling		1 Aug. 2012 (winter oat)	1 Aug. 2012 (catch crop) ⁶	30 Aug. 2012 (alfalfa)
Antislug ⁵		7 Aug. 2012		
Fertilization	5 Sept. 2012 (43 P, 47 K)			
Tillage	14 Sep. 2012 1 Oct. 2012		5 Sep. 2012 22 Oct. 2012	
Seedling	5 Oct. 2012 (winter barley)			
Cover crushing		29 Oct. 2012	23 Oct. 2012	23 Oct. 2013
Tillage			30 Oct. 2012 6 Mar. 2013 8 Apr. 2013	14 Nov. 2012 6 Apr. 2013 29 Mar. 2013 23 Apr. 2013
Herbicide	25 Oct. 2012			
Antislug ⁵	30 Oct. 2012			
Fertilizer	21 Feb. 2013 (50 N)	20 Feb. 2013 (108 Mg, 1083 Ca)		
Fertilizer	29 Mar. 2013 (90 N)			
Herbicide ²	25 Apr. 2013	14 May 2013		
Fongicide ³	6 May 2013			
Seedling		14 May 2013 (soybean)	13 May 2013 (soybean)	25 Apr. 2013 (grain maize)

¹ kg N (P, K, S, Mg or Ca) ha⁻¹; ² Glyphosate isopropyl amine salt, Tribenuron-methyl, Mefenpyr-diethyl or Metsulfuron-methyl, isoproturon, pendimethaline, prohexadione, Mepiquat-choride, ester 1-methylheptyl or florasulam; ³ Cyproconazole, Bixafen, azoxystrobin, prothioconazole or fluoxastrobin; ⁴ Deltamethrin; ⁵ metaldehyde; ⁶ Spring oat, Linse, Niger, Phacelia and Faba

III.2.2. Soil physical and chemical characteristics

Main soil physical and chemical characteristics for the four systems were measured between March 2012 and March 2013 on composites from 11 samples and are given in Table III.3.

Table III.3: Soil characteristics of the 0-30 cm soil layer for the 4 studied cropping systems.

	Unit ¹	S1	S2	S3	S5
Stones (> 0.5 cm)	%	2.1 ± 2.3	0.4 ± 0.3	13.7 ± 13.0	18.7 ± 10.2
Gravels (0.2-0.5 mm)	%	1.0 ± 1.0	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.1	1.2 ± 1.5
Clay	%	37.8 ± 4.3	43.5 ± 4.3	39.0 ± 3.5	44.2 ± 2.5
Loam	%	55.6 ± 3.5	51.9 ± 3.7	55.1 ± 2.9	51.2 ± 2.3
Sand	%	6.5 ± 0.9	4.6 ± 0.7	5.8 ± 0.6	4.5 ± 0.4
pH	-	7.0 ± 0.3	6.7 ± 0.1	7.0 ± 0.3	6.8 ± 0.2
CaCO₃	%	< 1.0	< 1.0	< 1.0	< 1.0
Organic N	g N kg ⁻¹	1.36 ± 0.22	2.01 ± 0.35	1.43 ± 0.17	1.54 ± 0.16
Organic C	g C kg ⁻¹	16.9 ± 2.1	22.5 ± 3.8	18.6 ± 1.3	18.6 ± 1.7
CEC	cmol(+) kg ⁻¹	19.1 ± 2.8	24.2 ± 3.5	20.2 ± 1.3	22.5 ± 1.9

¹ expressed on a dry soil basis

Table III.3 reveals some heterogeneity amongst the treatments. Heterogeneity on physical characteristics could be attributed to spatial heterogeneity while heterogeneity on chemical characteristics could be due to both spatial heterogeneity and systems effects.

III.2.3. Soil inorganic N content

Three soil samples were randomly collected monthly for the 0-30 cm soil layer and for each plot around the automatic chambers. Inorganic nitrogen i.e. NH₄⁺-N and (NO₃⁻ + NO₂⁻)-N was extracted by shaking 10 g of moist soil (with measured water content) with 50 mL of a 1 M KCL solution for 1 hour. The slurries were filtered using Whatman #42 filter paper (Whatman Group ®) and the extract was collected and frozen (-20°C). Ammonium and nitrate contents were determined by automated colorimetry (AFNOR, 2007). The soil gravimetric water

content of each subsample was estimated by mass difference before and after an oven-drying period of 24 hours at 105°C.

III.2.4. Soils bulk density

The bulk density of soil was measured each spring during the two cultural years 2011-2012 and 2012-2013, in each plot, using steel cylinders of known volumes (10 cm diameter, 5 cm height). Samples were taken between 0 and -30 cm depth, dried at 105°C during 24 hours and then weighted. Bulk density (ρ) was calculated as the ratio between the dried soil mass and the volume of the cylinder. Average system bulk density was defined as the mean of 3 samples randomly taken in the system for each date. Moreover, the estimation of bulk density allowed the calculation of the soil total porosity (P) following the formula (1):

$$P = 1 - \rho/\rho_s \quad (1)$$

where ρ is the bulk density of the soil and ρ_s the density of the soil solid particles (2.6).

III.2.5. Soil temperature, volumetric moisture and water filled pore space

Soil temperature and volumetric moisture were respectively monitored using 4 thermistor probes (Campbell Scientific® PT100) and 4 TDR probes (Campbell Scientific® CS-616) in each plot. Both TDR and temperature probes was set in pairs, at two depths (-5 cm and -20 cm). Temperature and moisture were automatically measured every two hours, during 5 minutes, each day. Recorded data were then stored on a data logger CR-1000 (Campbell Scientific®). A daily average was then calculated as the mean response from the 2 probes in each layer and plot. Rough TDR results were adjusted to punctual volumetric water contents obtained from gravimetric water contents (W) and bulk density (ρ) measurements to obtain continuous volumetric content (θ) (2):

$$\theta = \rho/\rho_w * W \quad (2)$$

where ρ is the soil bulk density, ρ_w is the density of water (1).

The daily proportion of water filled pore space ($WFPS$) was then calculated using the following formula (3):

$$WFPS = \theta/P \quad (3)$$

where θ is the daily average volumetric water content measured by the TDR probes and P , the estimated total porosity of soils.

III.2.6. N₂O emissions

Nitrous oxide (N₂O) emissions were measured continuously using the automated chamber method described in Vermue *et al.* (2013). A specific set of 24 static chambers (length 70 cm, width 70 cm, height 30 cm) was set up. The chambers were placed on each plot (6 chambers for each system, i.e. S1, S2, S3 and S5) covering the maximum surface, in a 25 m radius around the analyzing device located on the grass strip. In the field, the chambers were pressed 10 cm into the soil, giving a 98 L headspace volume. Nitrous oxide (N₂O) concentrations in the headspaces were measured by a Megatec® IR analyzer 46i, connected to each chamber using an automated screening system. N₂O kinetics were recorded over a 20 min period, with a time step of 20 s, 4 times a day for each chamber. The chambers were automatically re-opened at the end of each kinetic, allowing the soils to be normally fertilized and humidified by the rainfalls. Recorded data were then stored on a data logger CR-1000 (Campbell Scientific®) and collected once a week. N₂O fluxes were calculated as the slope of the linear regression between the N₂O concentrations and the 20 min measurement period expressed in seconds and converted into g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹. The sensitivity threshold, determined from the error on the slope measurements following the equation defined by Laville *et al.* (2011), was 0.7 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹. Daily N₂O fluxes were estimated as the means of the 4 x 6 replicates calculated each day in each system. Cumulated N₂O emissions for each system were calculated as the sum of N₂O emissions measured days during periods where measurements were performed on all the 4 treatments, without any extrapolation when measurements were missing.

III.2.7. Statistical analysis

For the experimental period, Kruskal Wallis tests with Dunn paired groups were used to test the null hypothesis that systems does not affect soils WFPS, temperature, mineral nitrogen contents and N₂O emissions. Correlations between N₂O emissions and soil environmental parameters were studied with Pearson's test. All statistical tests were performed with statistical significance set at 0.05.

III.3. Results

III.3.1. Site climatic conditions

Over the measurement period (March 2012 to March 2013), total rainfall was 820 mm, being in the upper rainfalls recorded for the past ten years (average of 730 ± 95 mm) for the

equivalent period. Average air temperature observed was about 10.9 °C, average temperature during the past ten years being 11.1 ± 0.6 °C for the comparable period.

III.3.2. Soil temperature

Soil temperature was not significantly different between systems or soil layer ($p > 0.05$). Average soil temperature in the 5 cm soil layer was respectively 12.4, 12.6, 12.4 and 13°C for the systems S1 (Fig. III.1), S2 (Fig. III.2), S3 (Fig. III.3) and S5 (Fig. III.4). Similarly, the average temperature in the 20 cm soil layer was 12.0, 12.5 and 12.8°C for the systems S1, S3 and S5.

III.3.3. Soil inorganic N contents

Both soil nitrate and ammonium contents varied significantly over the experimental time ($p < 0.05$), however soil nitrate contents only were significantly different between systems ($p < 0.05$). Whatever the system, soil ammonium contents in the 0-30 cm soil layer remained relatively low, ranging between 1.9 and 37.3, 0.5 and 41.1, 0.9 and 33.7 and 0.5 and 9.7 kg N-NH₄⁺ ha⁻¹ respectively for S1, S2, S3 and S5 systems. Maximum ammonium contents were recorded during spring in each system, after fertilization events.

Soil nitrate contents ranged between 0.7 and 86.4, 0.1 and 229.1, 0 and 75.9 and 0.2 and 112.2 kg N-NO₃⁻ ha⁻¹ respectively for S1, S2, S3 and S5 systems. A large peak of soil nitrate N, i.e. 229.1 kg N-NO₃⁻ ha⁻¹, was observed at the end of April on S2 system, where the three replicates were relatively homogenous. High soil nitrate contents were equally measured after the harvest in summer in all the systems.

III.3.4. Soil bulk density and water filled pore space

Over the experimental period, the average bulk density observed between 0 and 30 cm was 1.48 ± 0.05 , 1.52 ± 0.09 , 1.48 ± 0.04 and 1.47 ± 0.07 , respectively for S1, S2, S3 and S5 systems. Water filled pore space (WFPS) significantly differed between systems ($p < 0.05$) (Fig. III.1 to III.4), being lower for S1 and S5 systems, slightly higher for S3 system, and even higher for S2 system over the year. WFPS ranged between 55 and 70 % for S1 system, with the lowest mean of $64 \pm 4\%$. S2 system showed the highest WFPS with an average of $68\% \pm 3\%$, ranging between 60 and 74%. For S3 system, WFPS ranged between 51 and 77% over the experimental time, and showed the highest variation with an average WFPS of 66% and a standard deviation of 7%. Average WFPS for system S5 was $63\% \pm 5\%$ with WFPS

ranging between 50 and 70 %. Globally, WFPS for S2 and S5 systems were mostly above the theoretical threshold of the denitrification activity of 62% (Linn and Doran, 1984), while they were mostly beyond for S1 and S3 systems.

III.3.5. N₂O emissions

Daily N₂O emissions from the reference system S1 remained relatively low, ranging from -2 to 9 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹ (Fig. III.1), average flux being 0.5 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹. Cumulated emissions were 326 g N-N₂O ha⁻¹ over the experimental period for S1 system (Table III.4). Emissions from S2 system were significantly higher ($p < 0.05$), ranging from -2 to 257 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹ (Fig. III.2) with a 20 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹ average flux. S2 system cumulated emission was 5226 g N-N₂O ha⁻¹. Maximum emissions were observed during spring, while the soil emitted an average of 80 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹ during May 2011, accounting for 40% of total N₂O emitted over the measurement period from this system. For S3 system, N₂O emissions were not significantly different from the reference system S1. Daily N₂O fluxes ranged from -5 to 33 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹ (Fig. III.3), average daily flux being 1.5 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹. The cumulated emissions were 177 g N-N₂O ha⁻¹ over the year (Table III.4). Despite the absence of N fertilization, N₂O emissions from S5 system were significantly higher than the reference S1 and S3 systems ($p < 0.05$), but lower than S2 system ($p < 0.05$). Daily N₂O fluxes ranged between -6 and 56 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹ with an average daily N₂O flux of 3 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹ (Fig. III.4). Cumulated emissions of N₂O for S5 system reached 777 g N-N₂O ha⁻¹ (Table III.4).

Table III.4: Cumulated N₂O emissions for the 4 studied cropping systems expressed in g N-N₂O ha⁻¹ and in equivalent carbon dioxide kg C-CO₂ ha⁻¹.

Cropping system	S1	S2	S3	S5
Total N₂O emitted (g N-N₂O ha⁻¹)¹	326 ± 168 ^c	5226 ± 670 ^a	177 ± 172 ^c	777 ± 177 ^b
Carbon dioxide equivalent (kg C-CO₂ ha⁻¹)²	42 ± 22	667 ± 86	23 ± 22	99 ± 23

¹ total of N₂O emissions calculated from 256 days of measurement without extrapolation during gaps; means accompanied with the same letter are not statistically different.

² based on the conversion coefficient (298) defined by the IPCC (2007) on a molar basis.

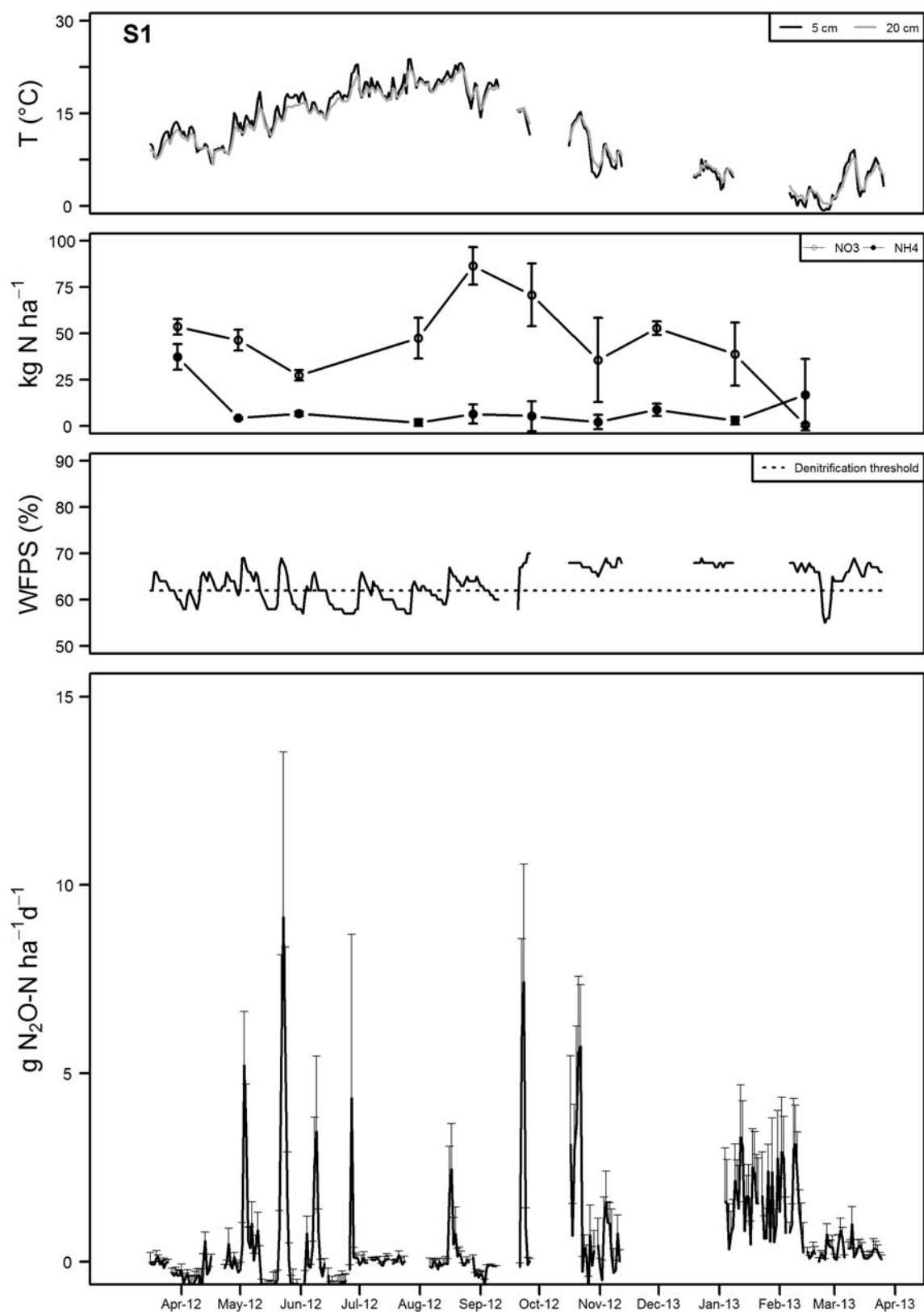


Figure III.1: Evolution of the soil temperature, soil inorganic N, water filled pore space and N_2O emissions for the reference system S1. The absence of lines in graphs corresponds to missing experimental data.

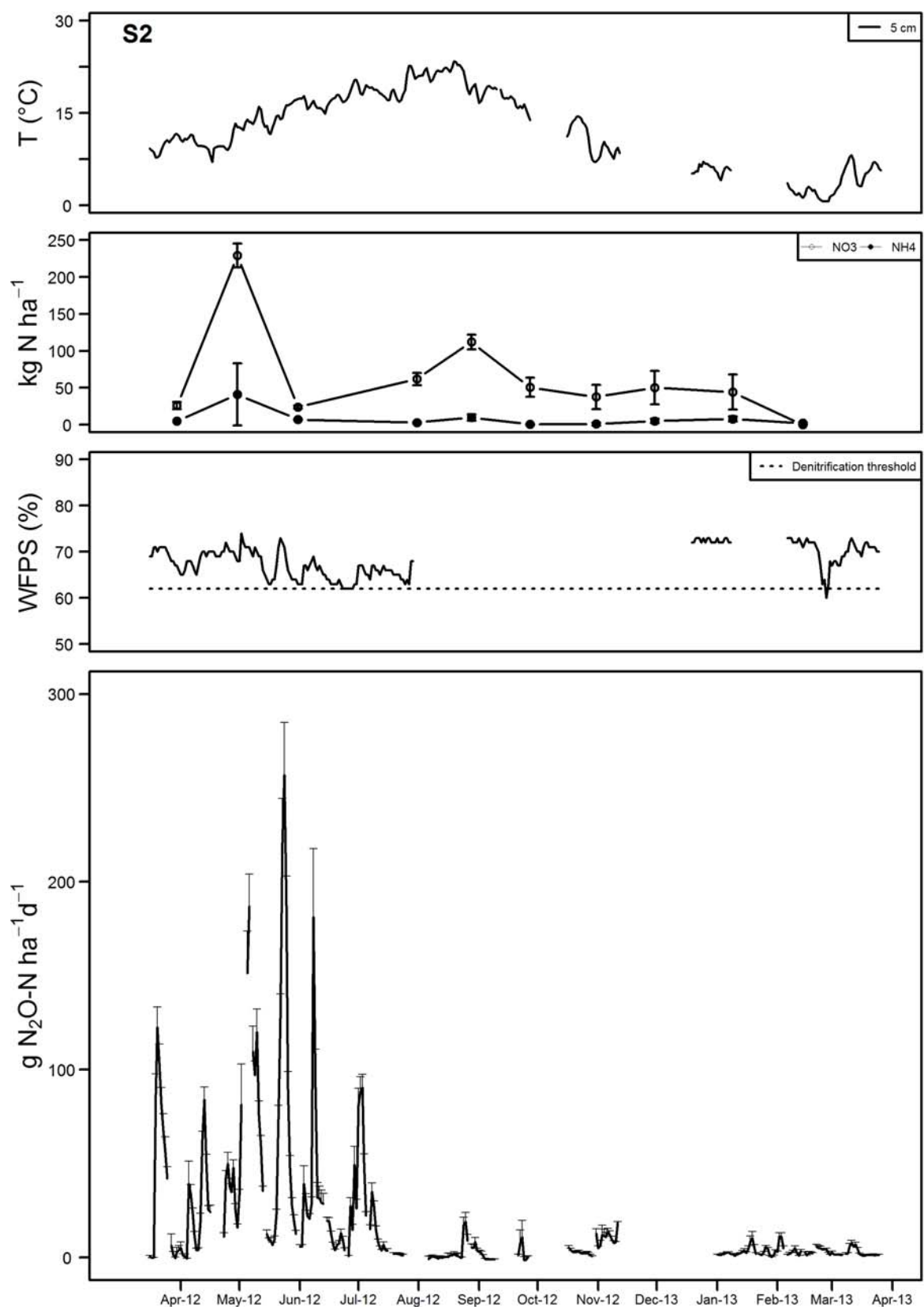


Figure III.2: Evolution of the soil temperature, soil inorganic N, water filled pore space and N_2O emissions for S2 IWM system. The absence of lines in graphs corresponds to missing experimental data.

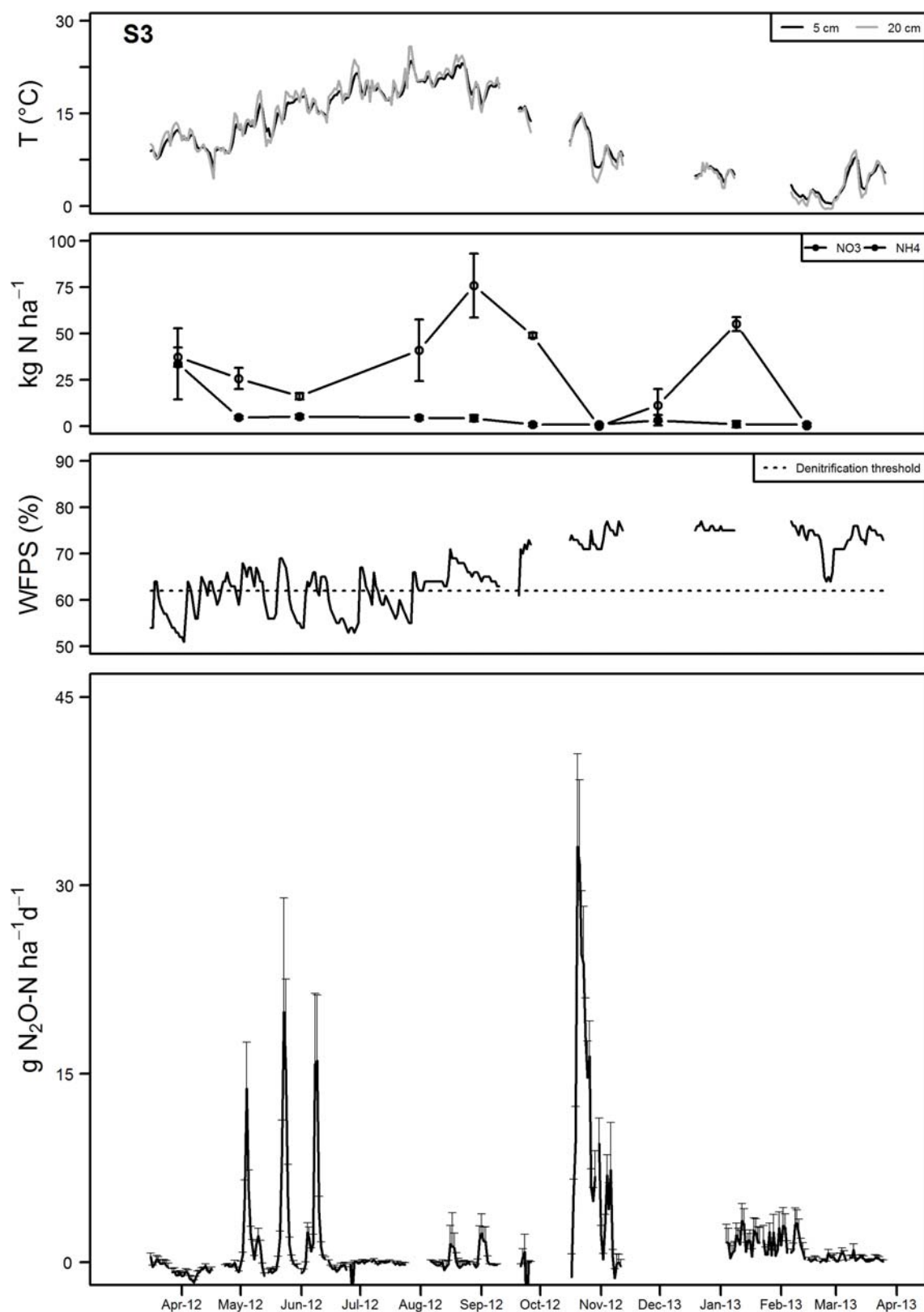


Figure III.3: Evolution of the soil temperature, soil inorganic N, water filled pore space and N_2O emissions for S3 IWM system. The absence of lines in graphs corresponds to missing experimental data.

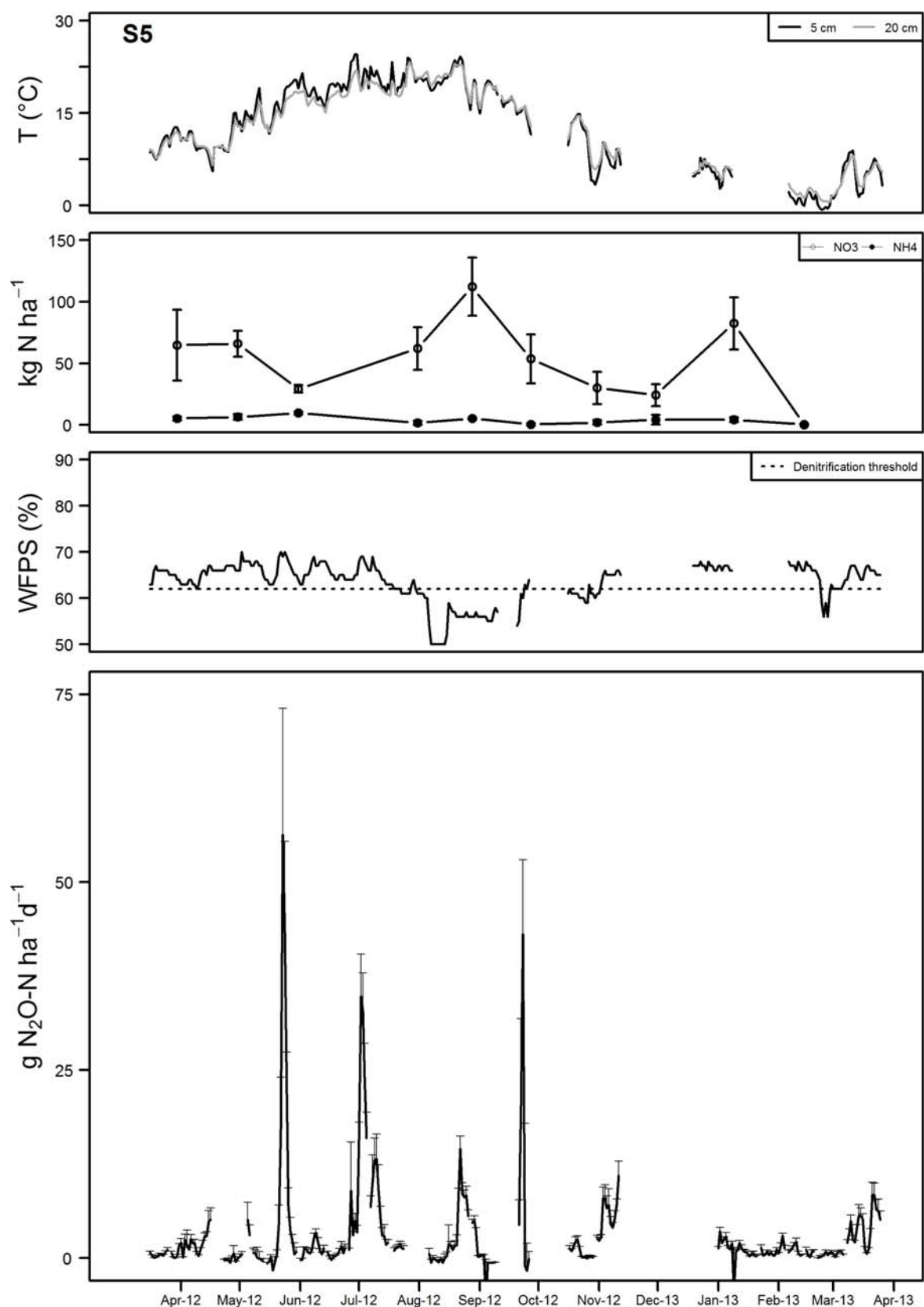


Figure III.4: Evolution of the soil temperature, soil inorganic N, water filled pore space and N_2O emissions for S5 IWM system. The absence of lines in graphs corresponds to missing experimental data.

III.4. Discussion

III.4.1. N₂O emissions dynamics

The intensity of the N₂O emissions was highly variable, both over time and between systems. High-resolution measurements were performed in all the systems over 1 year, between March 2012 and March 2013, to estimate N₂O emissions as recommended in the literature (Lotfield *et al.*, 1992; Flessa *et al.*, 2002; Akiyama *et al.*, 2009). The specific design here allowed the high temporal variability of the N₂O emissions to be captured in all the systems. The study was also conducted with several replicates into each plot in order to take into account inside plots spatial variability. As a result, some specific seasonal patterns have been identified for the different systems.

Levels of emissions from S1, S3 and S5 systems were comparable to those observed in 2011 on the same area (Vermue *et al.*, 2013), and also to punctual measurements performed in the agricultural area of eastern France (Hénault *et al.*, 1998) for comparable pedoclimatic conditions. Emissions from the system S2 were significantly higher than all previous measurements made in this area.

N₂O emissions from all the systems remained low most of the time whereas N₂O was mainly emitted during short peak periods over the measurement year for all systems. N₂O peaks observed were significantly higher for S5 system, and even more for S2 system. Higher N₂O emission peaks occurred during similar periods for all systems, and often coincided with periods with high WFPS values. Indeed N₂O emissions and WFPS were significantly correlated ($p < 0.05$) for S1 ($r = 0.30$), S2 ($r = 0.27$), S3 ($r = 0.24$) and S5 ($r = 0.29$) systems. High WFPS values are usually associated to high denitrification activity in soils (Linn and Doran, 1984; Grundmann and Rolston, 1987), which is often identified as the main microbial factor responsible for N₂O emissions from soil (Knowles *et al.*, 1982). This is consistent with the significantly highest WFPS and N₂O emissions measured for S2 system. On the other hand, low WFPS values recorded in S1 and S3 systems may explain the low production of N₂O. Denitrification, which occurs at high WFPS, was probably the main microbial process responsible for N₂O emissions (Knowles *et al.*, 1982) on the S2 system. For S1 and S3, we can suggest that N₂O was mainly emitted during nitrification (Clayton *et al.*, 1997).

Despite nitrate and ammonium contents are factors related to the production of N₂O in soils during respectively denitrification (Weier *et al.*, 1993) and nitrification processes, no significant correlation could be established between N₂O emissions and soil inorganic N

dynamics. Indeed, major application of N fertilizers in April 2012 did not immediately produce N₂O as often observed in literature (Clayton *et al.*, 1994). Similarly, the quite high inorganic N contents were measured after the harvesting period in August 2012, probably resulting from the mineralization of crop residues and soil organic matter (Velthof *et al.*, 2002), did not correspond to increased N₂O emissions, whatever the system. However, when high soil inorganic N contents induced by N fertilization are associated with rainfall, high N₂O emissions are generally observed in spring (Dobbie *et al.*, 1999). Indeed, 71% of N₂O emissions from S2 system were recorded before 20th of June 2012. Maximum emissions for S1, S3 and S5 systems were observed in autumn 2012 while temperature and water filled pore space remained favorable to N₂O production and despite lower soil inorganic N contents. This suggests that soil nitrate contents did not have limited the production of N₂O over the year during this study. However, N₂O emissions from all the systems were relatively low when WFPS values were low, nitrification related emissions being potentially limited by the low soil ammonium contents in all the systems over the year (Bateman *et al.*, 2005).

N₂O emissions were also rather low after November 2012 and remained less than 20 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹ in all the systems, while WFPS values were higher than 62%. However, from November 2012 to February 2013, soil temperature globally ranged from -0.6 to 9.4 °C and may have limited N₂O emissions for all system. Indeed, decreasing temperature values are known to negatively affect soil microbial activity, especially beyond 10°C (Avrahami *et al.*, 2003), and therefore N₂O production (Dobbie *et al.*, 1999).

III.4.2. Impacts of agricultural practices

Over the year of experimentation, the IWM system S2 emitted significantly more N₂O than the IWM system S5, which also emitted significantly more N₂O than the IWM system S3 and the reference system S1. However those cropping systems differed for numerous practices, integrated as part of the weed management, some of which could potentially affect both the soil status and the N₂O emissions (Hénault *et al.*, 1998; Ruser *et al.*, 2001; Ceschia *et al.*, 2010). Systems notably differed on soil tillage, which is known to significantly affect N₂O emissions (Nicolardot and Germon, 2008). Indeed, conventional tillage (CT) in S1 system (plowing each year), S3 and S5 systems (each 2 or 3 year) induced lower bulk density and consequently lower WFPS values. With lower WFPS, soil hydric conditions appeared to be significantly less favorable to denitrification and N₂O emissions (Linn and Doran, 1984) for

S1, S3 and S5 systems than for S2 system. This is consistent with the literature, where CT is often identified as a short-term way to limit N₂O emissions (MacKenzie *et al.*, 1997).

By contrast, in no-till (NT) system S2, WFPS values were significantly higher, and may have greatly enhanced the denitrification activity and the N₂O emissions. Indeed young NT systems are often reported as potentially more N₂O emitters than CT systems (Six *et al.*, 2002; Oorts *et al.*, 2007) despite the difference trends to revert in older systems (Six *et al.*, 2004; Nicolardot and Germon, 2008). Reported increased carbon sequestration in soils of NT systems (Freibauer *et al.*, 2004) may have been partly compensated in terms of GWP by N₂O emissions. Indeed N₂O emissions observed for S2 system appeared to be at least 6 times higher than for CT systems which is equivalent to a supplementary carbon dioxide emission of 0.7 t C-CO₂ ha⁻¹ on 256 days (Table 5). Conversions from CT to NT systems are reported to enhance carbon sequestration from 0.3 ± 0.1 t C-CO₂ ha⁻¹ y⁻¹ (Six *et al.*, 2002) for temperate soils to 0.6 ± 0.1 t C-CO₂ ha⁻¹ y⁻¹ globally (West *et al.*, 2002). Unfortunately, the additional C stock from NT in comparison with tilled systems could not be estimated here due to the absence of consistent past values. Current soil organic C contents were not significantly different between systems, except between S1 and S2 probably due to combined spatial heterogeneity and agricultural practices effects. Altogether, our results and literature data (Six *et al.* 2002; West *et al.* 2002) suggest that the very high N₂O emissions observed in the current 5 years old no-till S2 system would probably have compensated the potential carbon sequestered carbon. Nevertheless, in view of the analysis performed by Six *et al.* 2004, the GHG budget of the system could be improved on a longer time (20 years). Moreover, it is else important to note that rainfalls were especially high over the measurement period and may have greatly enhanced difference of N₂O emissions between systems, which may not be representative of an average year.

The different crop rotations between systems may also have impacted N₂O emissions (Halvorson *et al.*, 2008; Vilain *et al.*, 2010). Particularly, the introduction of a leguminous, alfalfa, in the crop rotation of S5 system may have enhanced N₂O emissions (Baggs *et al.*, 2000; Rochette *et al.*, 2004) despite this system did not received any N fertilization during the measurement period. Indeed, the cutting of alfalfa in S5 system may have contributed to the increase of soil inorganic N content during summer and N₂O emissions, the soil emitting more than 2/3 of the total emissions during summer and autumn. Similar stimulation of N₂O emissions induced by the degradation of residues of alfalfa (WagnerRiddle *et al.*, 1997) and other leguminous species (Velthof *et al.*, 2002; Rochette *et al.*, 2004) has been reported in the

literature. However, the introduction of lentils in S3 (Vermue *et al.*, 2013) also impacted N₂O emissions in 2011 in comparison with S1, while no significant difference was observed this year. Indeed, low emissions were observed in S1 and S3, although this is consistent with the literature, conventionally tilled systems associated with cereal crops already being reported as low emitters of N₂O (Dobbie *et al.*, 1999).

III.5. Conclusions

Over the year, the continuous monitoring of the four cropping systems allowed to identify N₂O fluxes as mostly resulting from short periods of favorable soil conditions for N₂O production by denitrification in soils *i.e.* high WFPS and temperature. Elsewhere, the intensity of N₂O fluxes significantly differed between systems, suggesting a strong impact of agricultural practices on N₂O emissions. Some very high emissions, exceeding 5 kg N-N₂O over a 256 days period was observed on the S2 plot characterized by the absence of tillage since 5 years. Despite some limit of our experimental device (no replicates of the treatments on a soil with some spatial variability), our results strongly suggest that a no-tilled integrated weed management system can promote N₂O emissions in comparison to tilled systems either conventional or integrated. As an equivalent emission of 0.7 t C-CO₂ ha⁻¹ was observed to be emitted by the S2 plot, the carbon sequestration in this system has probably been canceled during this very rainy year. However, efficiency of NT systems for mitigating global warming is known to increase with years, this study need to continue. Elsewhere, the N₂O emissions were also significantly affected by the crop rotation. The introduction of a leguminous in the S5 system has also, but slightly, increased N₂O emissions.

This work need now to continue while the literature suggests that the observed effect of IWM on N₂O emission could change overtime. The evaluation of IWM also includes some other components. This study could help in defining trade-offs between these components in different IWM systems.

Acknowledgements

A. Vermue was granted by the Burgundy Region and this work was funded by the Burgundy Region and the ANR SYSTERRA. We thank M. Lechenet for his help in the description of the agricultural practices, C. Ugarte for her help in the characterization of soils hydric parameters, F. Bizouard for his help with the experimental device maintenance and P. Farcy and the staff of the INRA experimental farm for the field management of the systems.

CHAPITRE IV

Quelle est l'influence des systèmes de culture PIC-adventices sur l'abondance et la dynamique des communautés microbiennes en relation avec l'intensité des émissions de N₂O ?

Influence of integrated weed management system on N-cycling microbial communities and N₂O emissions.

A. Vermue^a, L. Philippot^b, N. Munier-Jolain^b, C. Hénault^c, B. Nicolardot^{a*}

^a AgroSup Dijon, UMR 1347, Agroécologie, 26 rue Dr Petitjean, BP 87999, 21079 Dijon cedex, France

^b INRA, UMR 1347, Agroécologie, 17 rue Sully, BP 86510, 21065 Dijon cedex, France

^c INRA, UR 0272, Unité de Recherche en Science du Sol, 2163 Avenue de la Pomme de Pin, CS 40001 Ardon, 45075 Orléans cedex 2, France

Keywords: cropping system, greenhouse gas, nitrous oxide, microbial communities, denitrification, nitrification

* Corresponding author:

Bernard Nicolardot

AgroSup Dijon

UMR 1347 Agroécologie

26 Bd Docteur Petitjean

BP 87999

21079 Dijon Cedex, France

Tél.: +33 (0)3 80 77 23 48

Fax : +33 (0)3 80 77 25 51

Email: bernard.nicolardot@agrosupdijon.fr

Ce chapitre a été publié dans la revue Plant and Soil (2013, 373, 501-514)
(DOI 10.1007/s11104-013-1821-y)

Abstract

Aims

Integrated weed management, which allows reducing the reliance of cropping systems on herbicides, is based on the use of specific combinations of innovative agricultural practices. However the impact of the introduction of these practices in cropping systems may influence soil functioning such as biogeochemical cycling. Here, we investigated N₂O emissions and the abundances of N-cycling microorganisms in 11-year old cropping systems (i.e. conventional reference and integrated weed management) in order to estimate the environmental side-effects of long-term integrated weed management

Methods

N₂O emissions were continuously measured using automated chambers coupled with infrared analysers. Abundances of ammonia oxidizers and denitrifiers together with total bacteria and archaea were determined monthly from 0-10 and 10-30 cm soil layer samples by (quantitative *Polymerase Chain Reaction* (qPCR)). The relationship between N₂O emissions and microbial abundances during the study were investigated as were their relationships with soil physicochemical parameters and climatic conditions.

Results

Over 7 months, the system with integrated weed management emitted significantly more N₂O with cumulated measured emissions of 240 and 544 g N-N₂O ha⁻¹ for conventional and integrated systems, respectively. Abundances of microbial guilds varied slightly between systems, although ammonia-oxidizing bacteria were more abundant in the reference system (1.7 10⁶ gene copies g⁻¹ dry weight soil) compared to the integrated system (1.0 10⁶ gene copies g⁻¹ dry soil). These differences revealed both the long-term modification of soil biogeochemical background and the functioning of microbial processes due to 11 years of alternative field management, and the short-term impacts of the agricultural practices introduced as part of weed management during the cropping year.

Conclusions

The abundances of the different microbial communities involved in N cycling and the intensity of N₂O emissions were not related, punctual high N₂O emissions being more dependent on favourable soil conditions for nitrifying and denitrifying activities. Future studies will be performed to check these findings for other pedoclimatic conditions and to examine the impact of such cropping systems.

IV.1. Introduction

A future challenge for agriculture is to reach sustainability by conciliating economic, social and environmental competencies, adapting current cropping systems and designing new innovating cropping systems. This process comprises the development of Integrated Weed Management (IWM) systems that help controlling weeds through low reliance on herbicides (Chikowo *et al.*, 2009) and limited economic and social impacts (Pardo *et al.*, 2008). Cropping systems with integrated weed management rely on a combination of several agricultural practices, such as false seed beds, late sowing, mechanical weeding, reduced tillage, specific crop rotations that alternate spring and winter crops, the choice of crop varieties and the use of pesticides with low ecotoxic impacts (Munier-Jolain *et al.*, 2009). Several of these techniques or combinations of them can be used to control weeds, but may involve impacts or induce trade-off effects on other ecosystemic services. For example, tillage helps to control seed bank and weed emergence and development (Chauvel *et al.*, 2011; Mulugeta and Stoltenberg, 1997) but has an effect on farmers' work, fuel consumption, greenhouse gas emissions and the localization of organic matter in the soil profile (Oorts *et al.*, 2007). Agricultural practices, which affect land-use, may alter soil properties and have an impact on soil microbial communities and their activity, and particularly the functioning of C and N cycles in soil (Cheneby *et al.*, 2009). Similar results have been reported after pesticide treatments (Kukreja and Mishra, 1987). Indeed N₂O emissions from soil essentially results from microbial processes of nitrification and denitrification whose efficiencies depend on soil types and conditions (Maag and Vinther, 1996). Certain agricultural practices are known to significantly increase N₂O emissions, such as no tillage (Labreuche *et al.*, 2011; Nicolardot and Germon, 2008; Oorts *et al.*, 2007) and N fertilization of crops (Van Groenigen *et al.*, 2010).

Mitigating N₂O emissions generated by agriculture is a major challenge since agriculture now accounts for 70% of global greenhouse gas N₂O emissions (Cole *et al.*, 1997). Although efforts are currently made to limit and reduce greenhouse gas emissions (e.g. controlling N inputs, the introduction of legumes, etc.), these emissions should be considered right from the design phase of new innovative systems, with efforts made to quantify the expected trade-off effects. The high temporal and spatial variability of N₂O emissions always makes it difficult to estimate their intensity (Mathieu *et al.*, 2006). Several methods are available but each has limits and uncertainties. Despite the fact that laboratory measurements provide rapid and

reliable estimations of N₂O emissions on site (Well *et al.*, 2003), field measurements are also recommended for long-term monitoring in order to assess their high spatial and temporal variability. Recent studies have shown that the extent of these N₂O emissions could be influenced by the structure and abundance of ammonia-oxidizing and denitrifying communities (Avrahami and Bohannan, 2009; Philippot *et al.*, 2011; Regan *et al.*, 2011).

The objective of our work was: i) to study the effect of two cropping systems (i.e. reference and IWM system) on N₂O emissions from soils and the abundances of the microbial communities responsible for these emissions over several months; and ii) to investigate the importance of the abundances of the microbial communities and the soil conditions for N₂O emissions. N₂O emissions were measured using automated chambers coupled with infrared (IR) gas analysers while ammonia-oxidizing and denitrifying community dynamics were assessed by quantitative PCR.

IV.2. Materials and methods

IV.2.1. Site and experimental design

The study was conducted at the INRA experimental farm (Bretenière, eastern France, 47°20'N, 5°2'E). The climate is semi continental, with a mean annual temperature of 10.5°C and an average rainfall of 770 mm y⁻¹. The soil is described as a 0.9 m depth calcisoil whose main characteristics are given for both cropping systems in Table IV.1.

Table IV.1: Main soil characteristics for reference (S1) and IWM (S3) systems.

	Unit ¹	Reference System (S1)	IWM system (S3)
Bulk density	-	1.44 ± 0.10	1.46 ± 0.07
Stones (> 2 cm)	%	2.1 ± 2.3	1.3 ± 1.3
Gravels (> 2 mm)	%	1.0 ± 1.1	1.0 ± 1.0
Clay	%	36.6 ± 4.0	38.0 ± 3.5
Loam	%	54.0 ± 4.1	54.0 ± 2.9
Sand	%	6.3 ± 1.0	5.7 ± 0.6
pH	-	6.95 ± 0.27	7.00 ± 0.30
CaCO₃	%	< 1.0	< 1.0
Organic C	mg C kg ⁻¹	16.98 ± 2.11	18.6 ± 1.3
Organic N	mg C kg ⁻¹	1.36 ± 0.22	1.43 ± 0.17
CEC	cmol(+) kg ⁻¹	19.1 ± 2.8	20.2 ± 2.3

¹ expressed on a dry soil basis

The experimental site was set up in 2000 to assess the performance of four cropping systems based on Integrated Weed Management (IWM) compared to a reference standard system

(Chikowo *et al.*, 2009). Both systems differed in terms of crop rotation, soil tillage, mechanical and chemical weeding and crop management. Fewer herbicides were applied in IWM-based systems compared to the reference, resulting in lower environmental impact. The two plot systems (about 1.7 ha each) chosen in our study were contiguous and separated by a grass strip allowing the installation of the automated N₂O measurement system. The first cropping system is the standard reference (S1) designed to maximize financial returns, with emphasis placed on the use of chemical herbicides for weed control. Moldboard plowing was carried out each year during summer, and herbicides were chosen following the recommendations of the French Agency of Food, Environmental and Occupational Health & Safety (ANSES). The second system (S3) was an IWM system that allows for plowing and other soil tillage operations when necessary, according to field observations, for weed seed bank management. Mechanical weeding was excluded, as considered potentially too time-consuming for some farmers and/or difficult to implement on farms that do not have the appropriate equipment. For both systems, the study concerned the period April to October 2011. Both systems were sown with winter rapeseed, with a lentil undercover for S3. The main agricultural operations are detailed in Table IV.2 for the period studied.

Table IV.2: Mean cultural operations for S1 and S3 systems between rapeseed seedling in 2010 and winter wheat seedling in 2011.

Operation	Reference System (S1)	IWM system (S3)
Plowing	03 Aug. 2010	29 Jul. 2010
Rapeseed seedling	26 Aug.	13 Sep.
Lentil seedling	-	13 Sep.
Herbicide ¹	26 Aug.	-
Herbicide ²	30 Aug.	-
P fertilization ³	160 kg on 20 Sep.	160 kg on 20 Sep.
N fertilization ⁴	180 kg on 18 Feb.	165 kg on 18 Feb.
N fertilization ⁴	150 kg on 16 Mar.	150 kg on 16 Mar
Harvest	28 Jun.	12 Jul.
Grinding of crop residues	28 Jun.	-
Stubble plowing	-	25 Aug.
False seed bed	-	1 Sep.
False seed bed	-	13 Sep.
Plowing	2 Sep.	-
Seed bed preparation	3 Sep	26 Sep.
Winter wheat seedling	12 Oct. 2011	24 Oct. 2011
Rolling	13 Oct.	-

¹ Active substance = Napropamide ; ² Active substance = Metazachlor and Quinmerac; ³ in form of Ca(H₂PO₄)₂, H₂O in kg ha⁻¹; ⁴ in form of ammonium nitrate (33.5%) in kg ha⁻¹; Note: Fungicide (i) and insecticide (ii) treatments (treatment time not shown) were based on following active substances: (i) λ-cyhalothrin, alphamethrin, thiacloprid, deltamethrin and (ii) boscalid (510), prothioconazole.

IV.2.2. N₂O emissions

Greenhouse gas emissions were measured continuously using an adaptation of an automated chamber method, as described by Oorts *et al.* (2007). A specific set of 12 static chambers (length 70 cm, width 70 cm, height 30 cm) was set up. The chambers were placed on both systems (6 chambers for each system, i.e. S1 and S3) covering the maximum surface, in a 25 m radius around the analyzing device located on a grass strip. In the field, the chambers were pressed 10 cm into the soil, giving a 98 L headspace volume. Nitrous oxide (N₂O) concentrations in the headspaces were measured by a Megatec® IR analyzer 46i, connected to each chamber using an automated screening system. N₂O kinetics was recorded over a 20 min period, with a time step of 20 s, 4 times a day for each chamber. Recorded data were then stored on a data logger CR-1000 (Campbell Scientific®) and collected once a week. N₂O fluxes were calculated as the slope of the linear regression between the N₂O concentrations and the 20 min measurement period expressed in seconds and converted into g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹. The sensitivity threshold was determined from the error on the slope measurements following the equation defined by Laville *et al.* (2011). The average sensitivity threshold was found to be about 0.2 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹. Daily N₂O fluxes were estimated as the means of the 24 N₂O fluxes calculated each day in each system.

IV.2.3. Soil inorganic N and moisture

Soil samples (3 replicates) were composed from sub-samples collected monthly around chambers at two depths (0-10 cm and 10-30 cm) and conserved at 4°C (no longer than 1 week) and then used to determine soil inorganic N contents. Inorganic nitrogen i.e. NH₄⁺-N and (NO₃⁻ + NO₂⁻)-N was extracted by shaking 10 g of moist soil (with measured water content) with 50 mL of a 1 M KCL solution for 1 hour. The slurries were filtered using Whatman #42 filter paper (Whatman Group ®) and the extract was collected and frozen (-20°C). Ammonium and nitrates were determined by automated colorimetry (AFNOR, 2007). The water contents of each subsample were estimated by mass difference before and after an oven-drying period of 24 hours at 105°C. Soil porosity P (%) was estimated from punctual measurements of soil bulk densities in both systems from soil cores (length = 20 cm, diameter = 10 cm) (data not shown) as following:

$$P=1- \rho/\rho_s$$

where ρ is the bulk density of the soil and ρ_s the density of the soil solid particles (2.6). The Water filled pore space (WFPS) was then calculated by the formula proposed by Linn and Doran (1984):

$$\text{WFPS} = 100 \times \theta / P$$

where θ is the volumetric soil water content.

IV.2.4. DNA extraction

DNA was extracted according to ISO 11063 “Soil quality-Method to extract DNA from soil” (Petric *et al.*, 2011) from the 3 soil replicates collected at two depths in April, May, June, July August and October around chambers located in systems S1 and S3. Briefly, 250 mg of soil was homogenized in 1 mL of extraction buffer for 30 s at 1600 rpm in a mini-bead beater cell disruptor (Mikro-Dismembrator S; B. Braun Biotech International), followed by centrifugation at 14000 x g for 1 min to eliminate soil and cell debris. For protein precipitation, supernatant was incubated on ice for 10 min with 1/10 volume of 3 M sodium acetate and centrifuged (14000 x g, 5 min, 4°C). After precipitation with ice-cold isopropanol, nucleic acids were purified using polyvinylpolypyrrolidone and Sepharose 4B spin columns (Sigma-Aldrich, USA). An additional purification step was performed using a Nucleo Spin Extract-II” purification kit, as described by the manufacturer (Macherey-Nagel, Germany).

IV.2.5. Quantification of microbial communities

The abundances of both total and functional microbial communities were estimated by quantitative PCR (qPCR) using 16S rRNA genes and the genes encoding catalytic enzymes of ammonia-oxidation (bacterial and archaeal *amoA*) and denitrification (*nirK*, *nirS* and *nosZ*) as molecular markers. The total bacterial and archaeal communities were quantified using the 16S rRNA primer-based qPCR assays described previously (Ochsenreiter *et al.*, 2003). The quantification of the bacterial and archaeal ammonia-oxidizers was performed according to (Leininger *et al.*, 2006) and (Tournier *et al.* 2008) while the quantification of the denitrifiers was performed according to Bru *et al.* (2007) and Henry *et al.* (2006), respectively. The reactions were carried out in a StepOnePlus Sequence Detection System (Applied Biosystems, USA). The quantification was based on the increasing fluorescence intensity of SYBR Green dye during amplification. The real-time PCR assay was carried out in a 15 μ L reaction volume containing the SYBR green PCR Master Mix (Absolute QPCR SYBR Green Rox ABgene, France), 1 μ M of each primer, 250 ng of T4 gene 32 (QBiogene, France) and 5

ng of DNA. The standard curves were obtained using serial dilutions of linearized plasmids containing the genes studied. The PCR efficiency for the different assays ranged between 88 and 99%. The presence of PCR inhibitors in DNA extracted from the soil was estimated by mixing a known amount of standard DNA with soil DNA extract prior to qPCR. No inhibition was detected in either case.

IV.2.6. Statistical analysis

The statistical evaluation of the database and statistical tests were performed using R software (RCoreTeam, 2012). The normality of distributions was tested using the Shapiro-Wilks test. Kruskal Wallis tests with Dunn paired groups were used to assess time and system effects on N₂O emissions. Correlation between climatic conditions and N₂O emissions were assessed using Spearman test. Multiple t-tests with Bonferroni correction were used to compare monthly measurement of soil inorganic N and water contents between the systems. Furthermore, the microbial abundance data were log-transformed to normalize the distribution of data before the ANOVA in order to assess the global effects of sampling time, depth and cropping system on microbial abundances. Effect sizes of the ANOVA were calculated as the ratio between the sum squared of the effects and the total sum squared. Monthly comparison of gene abundances between systems was performed by Kruskal Wallis tests. Correlation between N₂O emissions, climatic conditions, soil moisture, soil inorganic N contents and abundances of microbial genes were assessed using Spearman tests.

IV.3. Results

IV.3.1. Climatic conditions and soil moisture

The year 2011 was marked by abnormally low rainfall, with 48 mm less over the year than the corresponding value for the last decade (740 mm). Late spring and late summer were particularly affected, with a net loss of 41 mm and 29 mm in May and September. (Fig. IV.1). Consequently, punctual measurements of water filled pore spaces (WFPS) did not exceed 60% while soils presented desiccation cracks (Fig. IV.2).

During the same year, mean air temperature on the experimental site was 0.7°C above the corresponding value for the last decade (11.0°C). Moreover, until May and late summer, mean temperatures were 1.6°C above the average temperature of the last decade for the equivalent period (15.1°C) and were up by 2.6°C in April (Fig. IV.1). In contrast, the mean

temperatures during June and July were lower than usual (-0.7 and -2.6°C respectively) while precipitations were higher by 39 mm above the mean of the previous decade during July.

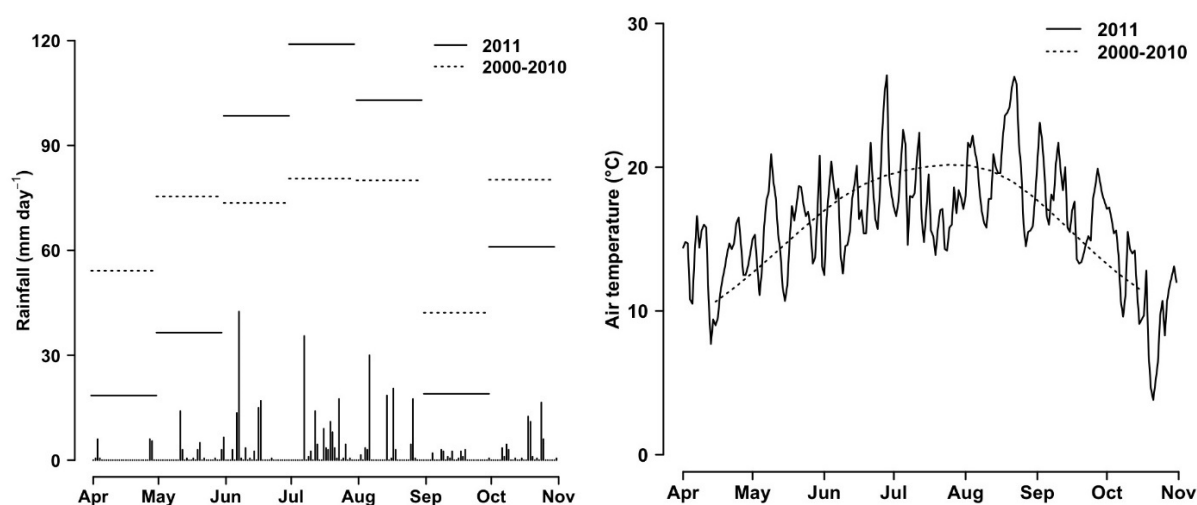


Figure IV.1: Daily (bars) and monthly (continuous or dotted horizontal lines) rainfall and daily temperature over the measurement period compared to the 10-year means calculated for a comparable period April to November and the same location.

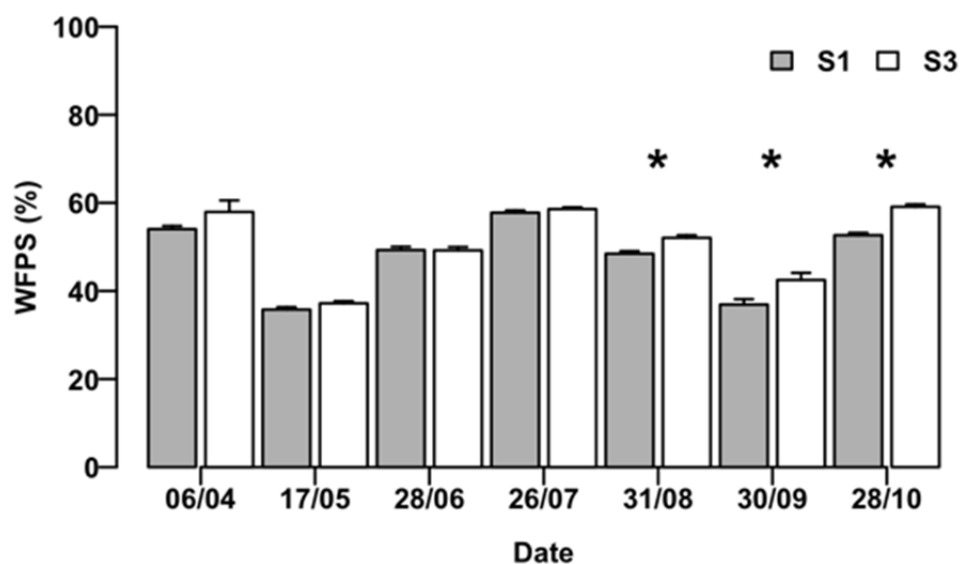


Figure IV.2: Water filled pore space (WFPS) in the 0-30 cm soil layer during the measurement period for systems (S1 reference) and S3 (IWM). * indicate significant differences ($p < 0.05$) between both systems.

IV.3.2. Soil inorganic N

The sampling time and depth of the soils had a significant effect ($p < 0.05$) on the soil inorganic N contents measured in both systems. Soil nitrate contents ranged from 0 to 38 kg N-NO₃⁻ ha⁻¹, maximum values being observed in the 10-30 cm soil layer and particularly in autumn (Fig. IV.3), whatever the system. Soil ammonium contents were more variable and ranged between 0 and 171 kg N-NH₄⁺ ha⁻¹ (Fig. IV.3). Soil ammonium contents were high in the 10-30 cm soil layer during April 2011, after N fertilization (Table 1 in Online Resource 1), with means of 67 and 79 kg N-NH₄⁺ ha⁻¹ in S1 and S3 respectively. However, these contents ranged between 0 and 42 kg N-NH₄⁺ ha⁻¹ from May to October 2011. Globally, both soil nitrate and ammonium contents were lowest during summer for both systems.

Indeed, in contrast to sampling time and depth, the weed management system had a weak impact on soil nitrate and ammonium contents despite the punctual significant differences ($p < 0.05$) observed. Compared to the reference S1, the soil nitrate contents of the 0-10 cm soil layer were lower for S3 in June. In contrast, for the S3 10-30 cm soil layer, soil nitrate contents were lower in August and higher in May, compared to S1. The soil ammonium contents for the S3 system were only significantly higher in May for 10-30 cm soil layer.

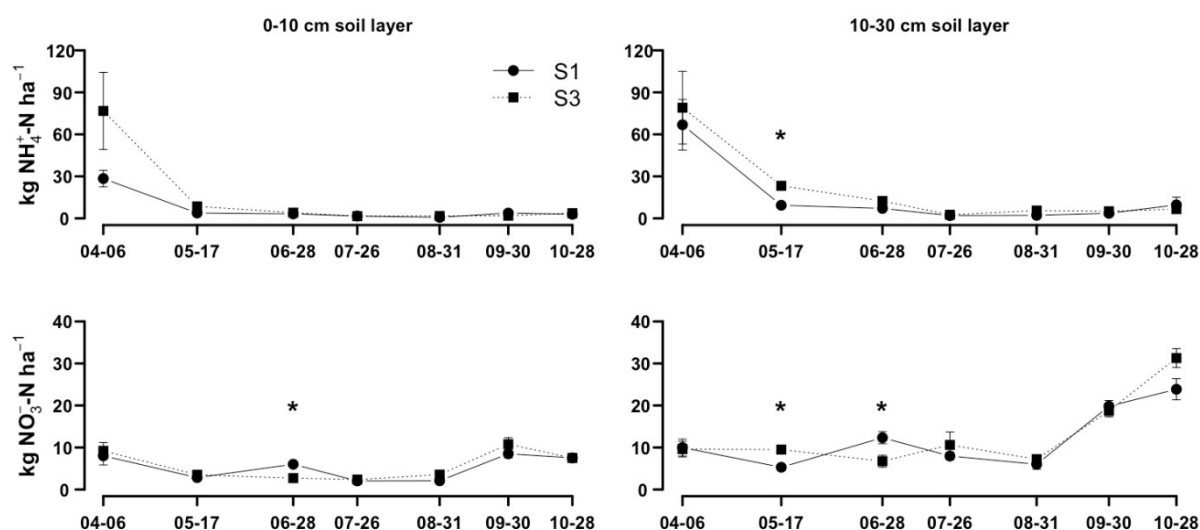


Figure IV.3: Ammonium and nitrate contents in the 0-10 cm and 10-30 cm soil layers for systems S1 (reference) and S3 (IWM). * indicate significant differences ($p < 0.05$) between both systems. Symbols correspond to mean ($n = 3$), bars correspond to standard errors; when not present bars are confounded with symbols.

IV.3.3. Dynamics of N₂O emissions

Nitrous oxide emissions between April and October 2011 were globally low (Fig. IV.4). Indeed, 75% of recorded fluxes were below 1 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹. Temporal variations of N₂O emissions were observed, although their amplitudes were significantly different between systems ($p < 0.05$).

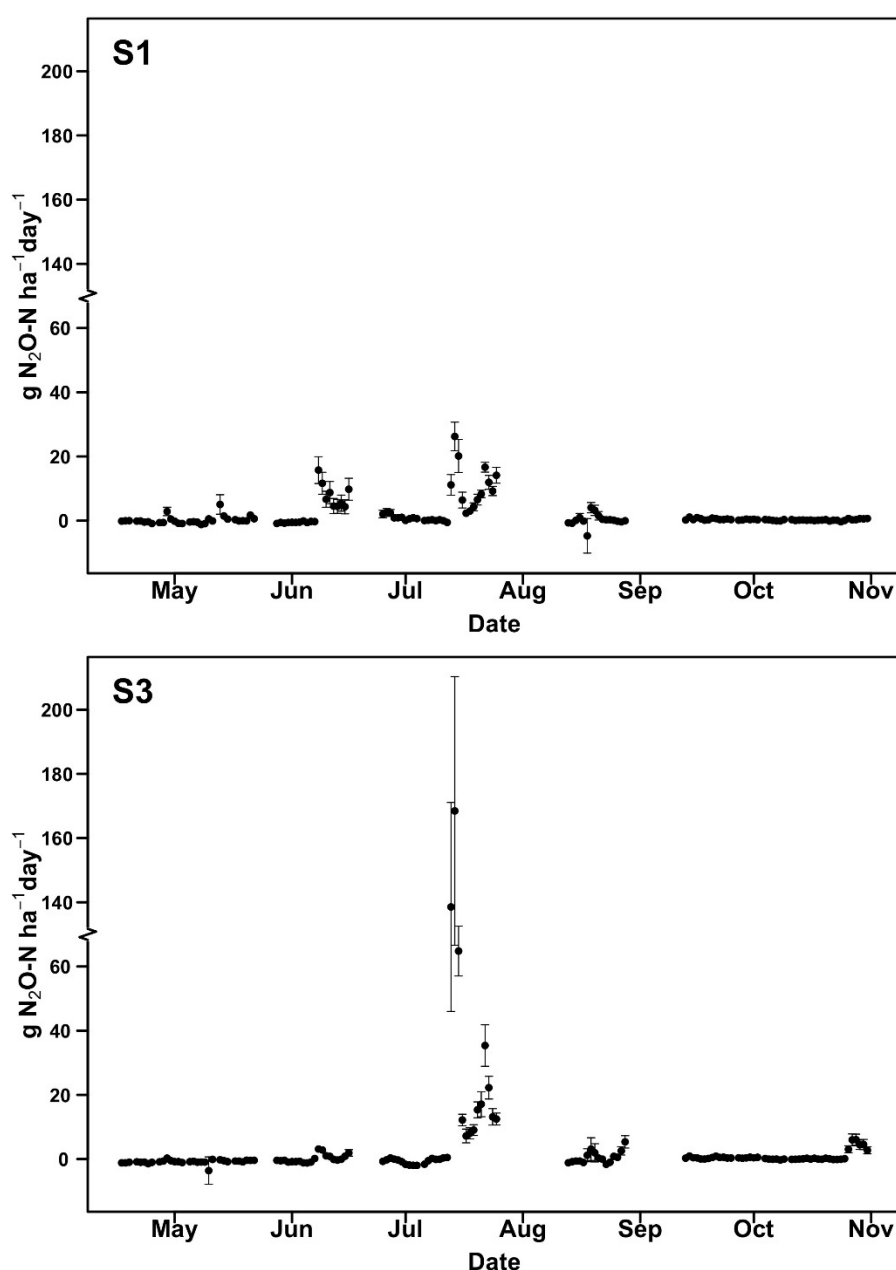


Figure IV.4: N₂O emissions for systems S1 (reference) and S3 (IWM). Error bars correspond to standard errors of the mean ($n = 6$) (displayed only when > 1 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹). * indicates significant differences ($p < 0.05$) between both systems.

Over the 7-month monitoring period, N₂O emissions ranged between -32 and 47 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹ and -24 and 354 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹ for the conventional system (S1) and the IWM system (S3), respectively. Cumulated measured emissions were 240 and 544 g N-N₂O ha⁻¹, respectively, for systems S1 and S3 between June and October. N₂O emissions were significantly lower during spring ($p < 0.0001$), especially during April and May for both S1 and S3 (Table IV.3).

Table IV.3: Cumulative N₂O emissions for S1 and S3 systems (g N-N₂O ha⁻¹).

	Apr.*	May*	Jun.*	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Total*
Number of days with measurement	12	23	22	24	16	17	29	143
S1 (Reference)	0	2	78	143	4	8	6	241
S3 (IWM)	-10	-18	13	515	9	7	28	544

Note: each cumulated value results from the sum of fluxes obtained on measured days; no extrapolation was calculated between measurements.

* indicate significant differences ($p < 0.05$) between systems.

No N₂O was emitted from S1 during April while it was consumed in S3 until June. Both systems emitted N₂O between June and October. The emissions from S1 were significantly higher in April, May and June ($p < 0.001$) over the whole study ($p < 0.001$). The intensity of N₂O emissions was highest during July while the soils emitted about 59% (S1) and 90% (S3) of the N₂O they emitted during the whole measurement period. Few high peaks of N₂O release (> 100 g N₂O-N ha⁻¹ day⁻¹) were recorded from S3, whereas N₂O emissions from S1 did not exceed 50 g N₂O-N ha⁻¹ day⁻¹. Neither daily N₂O emissions nor a 7 days mobile mean of N₂O emissions (centered on the day monthly measurements soil parameters and microbial abundances) were significantly correlated to the soil moisture, N mineral contents and gene abundances ($p > 0.05$, d.f. = 5). N₂O emissions from both systems were not significantly correlated with temperature ($R = 0.1$ and $R = -0.1$ for S1 and S3 respectively, $p > 0.05$, d.f. = 141). However, N₂O emissions from S3 appeared to be significantly correlated to rainfall ($R = 0.2$, $p < 0.05$, d.f. = 141), while no significant correlation was established for S1 ($R = 0$, $p > 0.05$, d.f. = 141). Finally, N₂O emissions appeared to differ significantly between systems ($p < 0.001$), though the effect size was low (0.004).

IV.3.4. Abundances of N-cycling microbial communities

The highest abundances were observed for the total bacterial community, with 3.7 to 9.2×10^8 16S rRNA gene copies g^{-1} dry soil (Fig. IV.5). The abundance of the archaea was 10 to 20 lower than that of the bacteria (Fig. IV.5). Of the microbial guilds studied and involved in N-cycling, the ammonia-oxidizing bacteria (AOB) were the least abundant with about 4.3 to 29.8×10^5 gene copies g^{-1} dry soil (Fig. IV.6). The ammonia-oxidizing archaea (AOA) were more abundant, ranging from 8.3×10^6 to 62.1×10^6 gene copies g^{-1} dry soil (Fig. IV.6). The denitrifying community was dominant with an average of 7.1×10^7 gene copies g^{-1} dry soil (Fig. IV.7). The denitrifying genes *nirK*, *nirS* and *nosZ* ranged between 6.1×10^7 and 18.3×10^7 , 4.3×10^7 and 12.6×10^7 , and 0.69×10^7 and 2.23×10^7 gene copies g^{-1} dry soil, respectively.

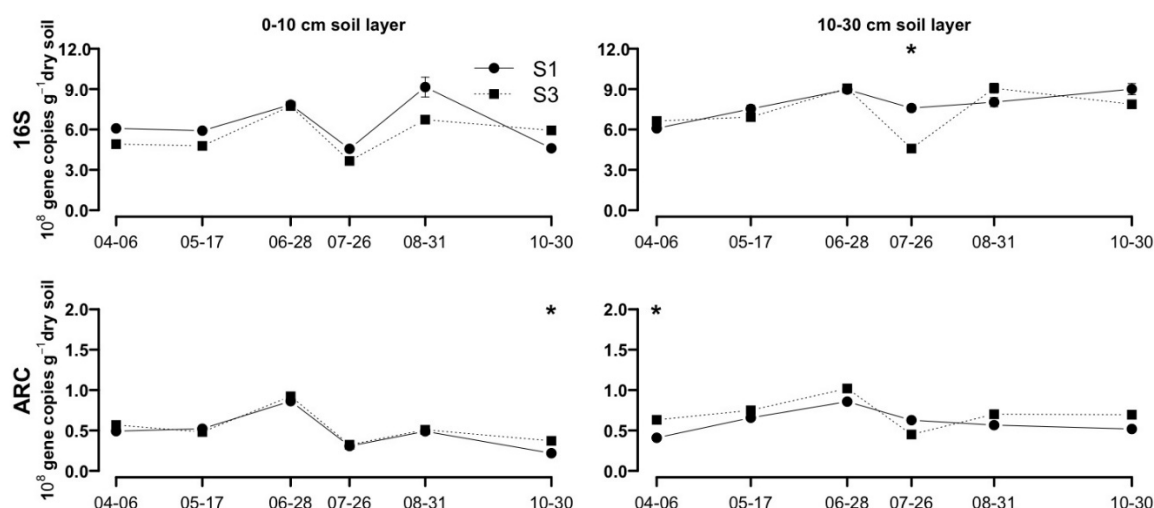


Figure IV.5: Abundances of 16S bacterial and archaeal genes in the 0-10 cm and 10-30 cm soil layers of systems S1 (reference) (●) and S3 (IWM) (■). * indicate significant differences ($p < 0.05$) between both systems. Symbols corresponds to mean ($n = 3$), bars correspond to standard errors; when not present bars are confounded with symbols.

Significant temporal variations were observed for all the microbial communities studied in both systems. The largest soil microbial communities were observed on June 28 and August 31. In contrast, a net loss in all abundances was observed between June and July, with an average of 50% of all the genes studied disappearing in the soils, the ammonia oxidizing guilds being slightly more affected (Fig. IV.6). Indeed the smallest abundances were observed in both soil layers on July 26.

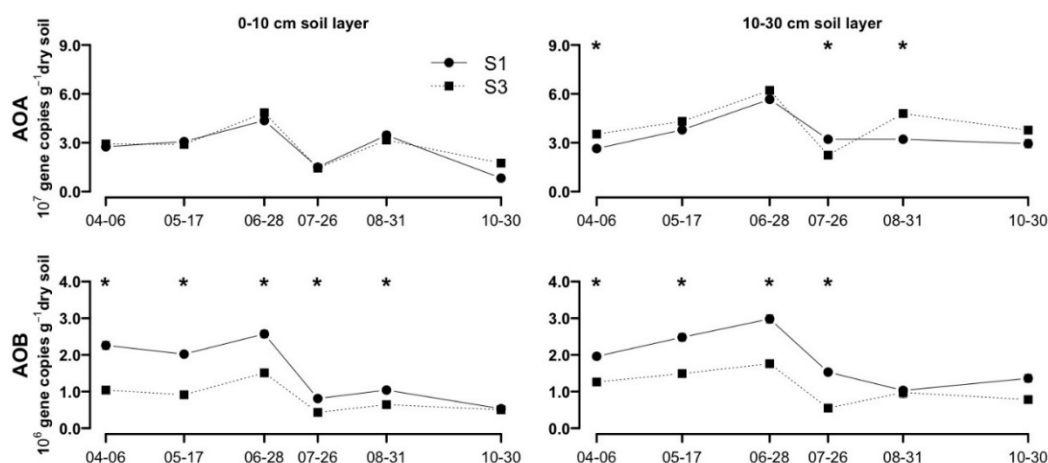


Figure IV.6: Abundances of AOA and AOB genes in the 0-10 cm and 10-30 cm soil layers of systems S1 (reference) (●) and S3 (IWM) (■). * indicate significant differences ($p < 0.05$) between both systems. Symbols corresponds to mean ($n = 3$), bars correspond to standard errors; when not present bars are confounded with symbols.

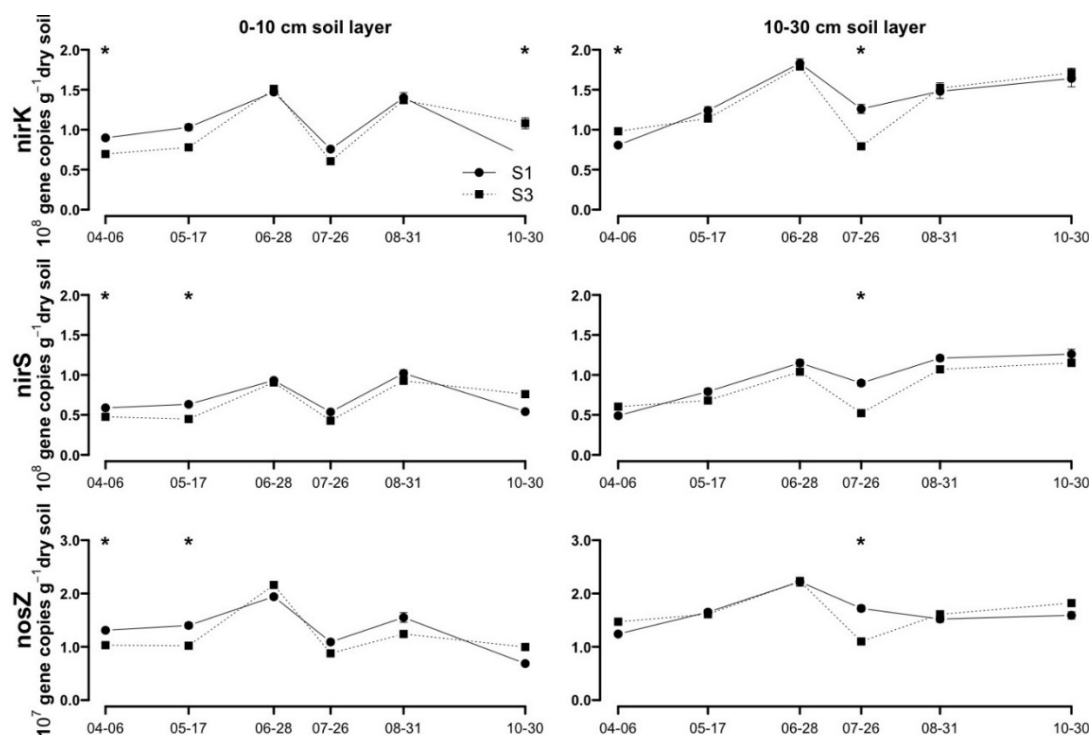


Figure IV.7: Abundances of nirK, nirS and nosZ genes in the 0-10 cm and 10-30 cm soil layers of systems S1 (reference) (●) and S3 (IWM) (■). * indicate significant differences ($p < 0.05$) between both systems. Symbols corresponds to mean ($n = 3$), bars correspond to standard errors; when not present bars are confounded with symbols.

Depth also had a significant effect on the abundance of the different N-cycling communities with an unexpected increase 10 cm under the soil surface (Table IV.4). Globally, abundances were 24% higher in the 10-30 cm than in the 0-10 cm soil layer from June to October 2011. However, the amplitude of this difference varied significantly over time, but differed between systems and genes. In April and August, abundances of all microbial genes in both soil layers were close for S1, while they were 20% higher for S3 in the 10-30 cm soil layer. The difference was then inverted and even more marked in October with all genes abundances higher by 59 and 40% in the 10-30 cm soil layer for S1 and S3, respectively.

Table IV.4: Analysis of variance and effect sizes for the factors and their interactions on the abundance of different studied microbial communities.

Factors	Bacteria	Archaea	nirK	nirS	nosZ	AOA	AOB
System	* (0.02)	** (0.02)	- (0.02)	** (0.02)	- (0.00)	* (0.01)	*** (0.19)
Time	*** (0.28)	*** (0.39)	*** (0.37)	*** (0.41)	*** (0.31)	*** (0.43)	*** (0.45)
Depth	*** (0.14)	*** (0.12)	*** (0.12)	*** (0.13)	*** (0.15)	*** (0.14)	*** (0.05)
System~Time	- (0.04)	- (0.03)	* (0.04)	* (0.03)	** (0.06)	- (0.03)	- (0.02)
System~Depth	- (0.00)	- (0.00)	- (0.00)	- (0.00)	- (0.00)	- (0.00)	- (0.00)
Time~Depth	- (0.04)	*** (0.09)	*** (0.06)	** (0.05)	*** (0.09)	** (0.09)	*** (0.03)

*** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$; - $p > 0.05$

In contrast to the sampling time and depth, the weed management system had a globally weak impact which was significant only on the abundances of the total bacteria and archaea, the nirS denitrifiers and both the bacterial and archaeal ammonia-oxidizers (Table IV.4). Some punctual differences were observed between the systems, though they could be mitigated depending on the soil layer. Indeed, the ratios nosZ over nirK and nirS (data not shown) appeared to be significantly higher in the S3 systems in June ($p < 0.05$). Moreover, the global abundance of the AOB gene was significantly ($p < 0.0001$) greater for the S1 system and both soil layers.

Abundances of denitrifying and ammonia-oxidizing guilds were only partially related to soil inorganic N contents. AOB gene abundance was only found to be correlated to the soil 0-10

cm NH_4^+ contents of S1. While considering the 0-30 cm layers, the abundances of nirS, nirK and nosZ genes were positively correlated to the soil NO_3^- contents in the S3 system ($R = 0.3$, $R = 0.3$, $R = 0.2$ for nirS, nirK and nosZ respectively, $p < 0.05$, d.f. = 82). In contrast, the ratio nosZ over nirK was negatively correlated to S3 soil NO_3^- contents ($R = -0.3$, $p < 0.05$, d.f. = 82).

IV.4. Discussion

IV.4.1. Determinism of the N_2O emissions

The N_2O fluxes were globally low between April and October 2011, especially compared to the fluxes previously measured in eastern France (Henault *et al.*, 1998). However, the climatic conditions and therefore the pedoclimatic conditions may have not been favorable to the microbial processes responsible for N_2O production during the study. Two periods were identified: (1) low emissions from April to May and after September, and (2) higher N_2O emissions from June to August.

Spring is usually thought as a favorable period for N_2O emissions due to the combination of rainfall and N fertilization, however no fluxes were recorded during this period. The last fertilization occurred in March and only the soil NH_4^+ content remained high at the beginning of April. Moreover, the climatic conditions in spring and autumn 2011 appeared unfavorable for emissions compared to classical conditions, as the rainfall was relatively low and the temperature relatively high, leading to abnormally dry soil conditions. Under these soil conditions, nitrification is usually identified as the main source of nitrous oxide emissions (Grundmann and Rolston, 1987; Linn and Doran, 1984), though emissions often remain lower under low water-filled pore space conditions (Bateman and Baggs, 2005). Although high temperatures can increase microbial activity and N_2O emissions (Schaufler *et al.*, 2010), significantly lower quantities of N_2O were emitted during the period (1) ($p < 0.0001$).

This period was also marked by numerous low negative N_2O fluxes ($< 1 \text{ g N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ day}^{-1}$). Negative N_2O fluxes indicate that soil N_2O is reduced and emitted as N_2 , which is the terminal step of the microbial denitrification process. The $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$ product ratio has been reported to decrease with increasing temperatures (Holtan-Hartwig *et al.*, 2002), however this process is usually observed under favorable soil conditions for denitrification (Knowles, 1982), including high water contents and low O_2 pressure. This may indicate the presence of favorable micro-scale conditions for denitrification despite globally dry soils (Parkin, 1987).

The soils emitted N₂O during the second period considered (2), i.e. June, July and August. Indeed, most fluxes above 1 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹ were observed during this period, while abnormally high rainfalls were observed, especially in July (> 20 mm day⁻¹). These abnormal rainfall events may have temporarily increased the moisture of the previously dry soils, leading to favorable conditions for denitrification (Davidson, 1992). Indeed N₂O emissions from S3 were partially explained by rainfall events, this relationship being not established for S1. However, rapid changes in soil water contents couldn't be captured by the soil moisture measurements performed in this study. None of the other monthly measured soil parameters appeared to be correlated with N₂O emissions.

IV.4.2. Impacts of integrated weed management system on N₂O emissions

Over the seven months of monitoring N₂O emissions, the S3 system including integrated weed management emitted significantly more N₂O than the reference system S1. This difference suggests that 10 years of specific agricultural practices may have altered the biogeochemical background of the soils, inducing different responses in terms of N₂O emissions from the systems. Alternatively, the response may have been directly influenced by the different agricultural practices occurring in 2011 for both systems. Indeed, the maximum N₂O fluxes were observed shortly after harvest in both systems, though they were higher in the S3 system (up to 354 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹), with the main difference between the two systems in 2011 being the introduction of an undercover of lentil seedlings as part of the integrated weed management. The spreading of plant residues may have enhanced nutrient availability after harvest, inducing the quick response of microbial N₂O production (Cheneby *et al.*, 2010). Moreover, as a leguminous plant, the residues of lentils have been widely reported in the literature to enhance N₂O emissions when ground (Baggs *et al.*, 2000; Rochette *et al.*, 2004) due to their low C to N ratio (Baggs *et al.*, 2003). N₂O production in soils could have been stimulated by the release of inorganic N during the decomposition of the lentil residues in soil (Rochette *et al.*, 2004). Similar results were observed during the degradation of residues of various leguminous species (Velthof *et al.*, 2002) whether the residues were incorporated or not (Novoa and Tejeda, 2006). This seems in accordance with the evolution of the soil nitrate content, which tended to increase in S3 after July, while the soil nitrate content in S1 was significantly higher before harvest ($p < 0.05$). However, the slightly higher N fertilisation input (15 kg N ha⁻¹) for S1 in February 2011 did not seem to

have affected the initial soil inorganic N stocks since the ammonium and nitrate contents measured in April were not significantly different between either system.

In our field experiment, different herbicide treatments were applied before the beginning of the measurement in both systems. However the active substances used should not have impacted the emissions of N₂O nor the microbial communities. Indeed, previous studies reported no long-term effects of the herbicides used (Mrazek *et al.*, 1984; Hart, 1995; Beulke and Malkomes, 2001; Guo *et al.*, 2009). Other pesticides treatments were applied without an in-depth investigation of their potential effect on microbial communities. However the impacts of most of the pesticides used were not yet documented or contrasted. Indeed, while λ -cyhalothrin was reported to have a positive impact on nitrification (Cycon *et al.*, 2006) and to alter the functional structure of microbial communities (Lupwayi *et al.*, 2009), deltamethrin is reported to have no effect (Germida *et al.*, 1987).

Finally, tillage, had likely no influence on N₂O emissions since both systems were ploughed after harvest in 2010. Consequently, soil physical parameters (e.g. bulk density) were comparable at the beginning of the experiment for both systems.

IV.4.3. Dynamics of microbial abundances and processes

As in previous studies (Bru *et al.*, 2011; Leininger *et al.*, 2006), we found that AOA dominated AOB in our soil, with AOA/AOB ratios ranging between 10 and 100. Evidence has been presented recently of the role played by archaea in soil ammonia-oxidation (Wessen *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2010). Significant seasonal variations in the abundance of microbial communities were observed, which is consistent with other studies (Bardgett *et al.*, 1999; Novinscak *et al.*, 2012). Overall, microbial communities were significantly more abundant in the second climatic period, except AOB. Long-term control of microbial community abundance had been reported to be induced by changes in soil environmental conditions (Pereira e Silva *et al.*, 2012), such as punctual disturbance of soil biogeochemical cycles caused by rainfall events (Cruz-Martinez *et al.*, 2012). Maximum abundances for both N-cycling communities were observed at the end of June 2011, when the daily temperature reached its maximum for the year (26.4°C). Accordingly, it is well known that microbial growth is stimulated by temperature (Pietikainen *et al.*, 2005). However, it has also been reported that agricultural practices could potentially affect microbial communities more than seasonal variation (Yu *et al.*, 2011). Indeed, significant major variations in microbial community abundances were observed between June and July during the second climatic

period and therefore may have not been related to climatic changes. A decrease of about 50% in the abundance of all the microbial communities occurred shortly after harvest, suggesting that the removal of plant substrate may have had adverse consequences on microorganisms. The stimulatory effect of root exudates on microbial communities has previously been reviewed (Bais *et al.*, 2006). Similar impacts on bacterial fatty acid abundances in soils were observed after cutting grass (Medeiros *et al.* (2006). In our study, both systems were affected whether the crop residues were ground (S1) or not (S3), but with weak or no effect in the 10-30 cm soil layer of S1. The abundances of denitrifying guilds were enhanced by the soil NO_3^- contents. Soil NO_3^- content was also found to be correlated to the abundance of the nirS denitrifiers as shown by Enwall *et al.* (2010). In contrast, the proportion of N_2O reducing bacteria (nosZ over nirK) decreased with increasing soil NO_3^- contents. Accordingly, it is well known that soils NO_3^- content affects the $\text{N}_2\text{O}/\text{N}_2$ ratio with higher N_2O emissions when the NO_3^- concentration increases (Blackmer and Bremner, 1978)

Interestingly, we found that microbial communities were larger in the 10-30 cm soil layer during the whole study, except for the first sampling time. The dryness of the 0-10 cm soil layer may have been unfavorable for microbial development. Globally the differences between both soil layers were less marked in S1 except during July and October. The development of the microbial communities in the 0-10 cm soil layer of system S3 may have been enhanced by the additional N release provided by the lentil harvest, which is consistent with the enhanced N_2O production. Similarly, during August the abundances in the 0-10 cm soil layer of S1 were greatly reduced with a net difference of about 60% between both soil layers. However, contrary to system S3, system S1 was ploughed in early September and tillage is known to significantly reduce soil microbial diversity and biomass (Bruns *et al.*, 1999; Feng *et al.*, 2003; Helgason *et al.*, 2010).

The strongest impact of the weed management system was observed for AOB whose abundances were on average 40% higher for S1 than for S3. The higher sensitivity of the abundance and structure of the bacterial ammonia oxidizing community to land management has been underlined in several studies (Bru *et al.*, 2011; Carney *et al.*, 2004; Mertens *et al.*, 2009; Ying *et al.*, 2010). Indeed, the comparison of 183 candidate biological indicators for monitoring soil quality resulted in the ranking of AOB diversity as the top indicator (Ritz *et al.*, 2009). More recently, Wessen and Hallin (2011) proposed that the abundances of the ammonia oxidizing bacteria could also serve as a cost-effective bioindicator. Our results

showing significant changes in AOB abundances between the different systems confirm that this microbial guild could be an effective indicator of changes in cropping systems.

IV.4.4. Relationships between N-cycling communities and N₂O emissions

Despite being related to both climatic conditions and agricultural practices, no relation was identified between N₂O emissions and community abundances. These emissions were observed when favorable conditions for N₂O production were met, whatever the abundance of the total microbial communities. However in June, the proportion of denitrifiers genetically capable of reducing N₂O was significantly higher in S3, which could have limited the N₂O emissions during this month, as previously suggested (Regan *et al.*, 2011). In a previous study, more than 85% of in situ N₂O flux variances were explained by soil temperature, denitrification activity and abundances of specific denitrifying lineages (Cantarel *et al.*, 2012). While ammonia-oxidizers and denitrifiers are responsible for emissions of N₂O, the highest abundances of these microbial guilds in this work did not match the maximum N₂O emissions, whereas maximum emissions were observed simultaneously with minimum abundances. Indeed, no significant correlation was found between N₂O fluxes and monthly measured gene abundances. Altogether, soil conditions affected by climatic conditions and agricultural practices appeared to be the main factors controlling N₂O emissions.

IV.5. Conclusions

The nitrous oxide fluxes measured over a 7-month period varied through time were greatly affected by soil pedoclimatic conditions. Nevertheless, significantly higher emissions were observed for the integrated weed management system (S3) compared to the reference system (S1), highlighted by the different responses from the systems to climatic punctual events. Cropping systems, which include a combination of different agricultural practices, also had a significant impact on the abundance of microbial communities, especially on the ammonia-oxidizing communities. While small variations of the abundance of microbial communities appeared to be related to seasonal changes in climatic conditions, more drastic changes could be related to cropping system management, such as tillage or harvest. Overall, no significant relationships were observed between N₂O emissions and microbial community abundances, suggesting that soil conditions rather than the abundances of nitrifying and denitrifying communities in soils were the most important factors controlling the intensity of N₂O emissions. The abundances of microbial genes responsible for the nitrification and

denitrification in soils did not appear here as possible inputs in the explanation of differences in N₂O emissions emitted by the 2 studied cropping systems. Future studies should investigate the effect of IWM systems over longer periods to clarify the effect of the climatic factors and the relationship between gene abundances and microbial activities.

Acknowledgements

This work was funded by the Burgundy Region and the ANR SYSTERRA. We thank A. Coffin for the setup and technical maintenance of the measurement device, D. Bru for performing the molecular microbial analyses, P. Farcy and the staff of the INRA experimental farm for the field management of the systems, F. Bizouard for his help in the field experiments and F. Dessaint for his help in the statistical analysis.

CHAPITRE V

Quelle est la capacité des modèles d'émission de N₂O, NOE et DNDC, à restituer la dynamique des flux observée pour chaque système et à en identifier les principaux facteurs de régulation ?

Comparative study between continuously measured N₂O fluxes from IWM management systems and simulated fluxes with NOE and DNDC models

A. Vermue^a, B. Nicolardot^{a*}, C. Hénault^b

^a AgroSup Dijon, UMR 1347, Agroécologie, 26 rue Dr Petitjean, BP 87999, 21079 Dijon cedex, France

^b INRA, UR 0272, Unité de Recherche en Science du Sol, 2163 Avenue de la Pomme de Pin, CS 40001 Ardon, 45075 Orléans cedex 2, France

Keywords: simulation, model, greenhouse gas, nitrous oxide, cropping system, denitrification, nitrification.

*** Corresponding author:**

Bernard Nicolardot

AgroSup Dijon

UMR 1347 Agroécologie

26 Bd Docteur Petitjean

BP 87999

21079 Dijon Cedex, France

Tél.: +33 (0)3 80 77 23 48

Fax : +33 (0)3 80 77 25 51

Email: bernard.nicolardot@agrosupdijon.fr

Ce chapitre constitue un projet de publication pour la revue Ecological Modelling

Abstract

Aims

The important spatial and temporal variability of N₂O emissions generally observed from agricultural soils make their study difficult. However the modeling approach may be helpful to analyze N₂O emissions from different cropping systems and identify their main regulation factors. Here we investigated the performance of two models, NOE and DNDC in the reproduction of the N₂O emissions variability observed for four different cropping systems.

Methods

The N₂O emissions simulated with NOE and DNDC were compared with observed N₂O emissions, using statistical criterion of association and coincidence. Experimental data (soil characteristics, soil inorganic N, N₂O fluxes) were collected on 4 cropping systems (S1, S2, S3 and S5) between March 2012 and March 2013. S1 was the local conventional reference; S2, S3 and S5 were IWM systems with respectively no tillage, no mechanical weeding and no herbicide treatments. These data allowed the parameterization of the models, though NOE required additional biological parameters to be measured on site and DNDC required additional agronomic and soil information.

Results

DNDC failed to reproduce correctly observed N₂O emissions. In contrast, NOE accurately captured the dynamics of N₂O emissions in all the systems. NOE simulated cumulated emissions of 706, 3209, 1360 and 1596 g N-N₂O ha⁻¹ in S1, S2, S3 and S5 respectively. N₂O emissions simulated with NOE appeared to be mainly produced by denitrification and significantly regulated by soil N contents, temperature and water contents.

Conclusions

The original confrontation between simulated N₂O emissions and continuously measured data allowed a high confidence in the statistical assessment of the models to be reached. N₂O emissions simulation performed with NOE appeared to be more accurate than with DNDC, which may require a tuning of soil parameters. In contrast, NOE accurately identified the no-till system S2 as the most emitter over the conventionally tilled systems, confirming the interest of the modeling approach to estimate and analyze N₂O emissions from cropping systems.

V.1. Introduction

Nitrous oxide (N_2O) is a powerful greenhouse gas, described as the third largest contributor to the additional radiative forcing (IPCC, 2007). N_2O is contributing to climate change with a 100-year global warming potential estimated at 298 higher than that of carbon dioxide CO_2 (on a molar basis) (IPCC, 2007) and ozone depletion (Ravishankara *et al.*, 2009). Despite all the sources and sink of N_2O emissions not being clearly defined, food production is reported as the largest single source of N_2O emissions, emissions from agriculture accounting for about 25 % of total N_2O emissions (UNEP, 2013).

N_2O emissions from agricultural soils are the result of several microbial processes (Butterbach-Bahl *et al.*, 2013), and particularly from the denitrification and nitrification (Braker and Conrad, 2011). Denitrification is often identified as the main source of N_2O (Mathieu *et al.*, 2006a), especially in soils with high water filled pore space values (Linn and Doran, 1984), N_2O being an obligatory step in the reduction of nitrates (NO_3^-) in nitrogen gas (N_2) (Knowles *et al.*, 1982). Nevertheless, nitrification is commonly identified as the main source of N_2O emissions in dry soils with low hydric potentials (Garrido *et al.*, 2002). High peak of N_2O emissions are generally attributed to denitrification. Both processes, being highly depending on soil conditions, are affected by climatic conditions (Dobbie and Smith, 2003; Flechard *et al.*, 2007) and land management (Hénault *et al.*, 1998; Skiba and Smith, 2000; Smith and Conen, 2004). Variations of denitrification and nitrification activities generally induce a high temporal and spatial variability of the N_2O emissions in cropping systems, and make their study difficult (Mathieu *et al.*, 2006b; Hénault *et al.*, 2012).

Modeling approaches are necessary to overcome this complexity. Models are supposed to be able to take into account the influence of the main soil physical and chemical parameters on N_2O emissions and their interactions. Different models are available (Frolking, 1998; Chen *et al.*, 2008). These models differ in their structure and their applications domains. Some models provide simple simulation of N_2O fluxes, *e.g.* NOE (Hénault *et al.*, 2005), NLOSS (Riley and Matson, 2000), while other simulate several soil biogeochemical parameters, *e.g.* DAYCENT (Parton *et al.*, 2001), DNDC (Li *et al.*, 1992), before simulating N_2O . They also cover different spatial scales. Some models predict N_2O emissions at the field scale, while some models allow simulating emissions at farm scale, *e.g.* FASSET (Olesen *et al.*, 2002), or even larger area, *e.g.* DNDC-EUROPE (Li *et al.*, 1992; Leip *et al.*, 2008).

In combination with field measurement of N₂O fluxes and environmental parameters, models can allow a better understanding of the mechanisms of N₂O emissions in soils. The comparison between measured and simulated fluxes can help to analyze the impacts of each soil variable and effect of different agricultural management (Gabrielle *et al.*, 2006; Rafique *et al.*, 2011). This approach requires the use of adequate statistical indicators to assess both the association and coincidence between simulated and observed N₂O emissions (Smith *et al.*, 1996).

In this study, we provide an original comparison between continuously measured N₂O fluxes and simulated N₂O fluxes. N₂O emissions were measured from four agricultural systems dedicated to the study of integrated weed management in eastern France. The simulations were performed with the models NOE and DNDC.

V.2. Materials and methods

V.2.1. NOE and DNDC models

V.2.1.1. NOE (Nitrous Oxide Emissions) model

NOE is an algorithm which allows simulating N₂O fluxes at the cropland scale by cumulating both nitrification and denitrification emissions of N₂O, and taking in account N₂O reduction. Each subpart of the model relies on the combination between soil specific biological (1) and environmental (2) parameters, which are measured *in situ*. (1) The biological parameters deal with the soil potential to denitrify (Dp), the soil capacity to emit N₂O through nitrification (a and b, slope and Y-intercept of the linear relationship between soil nitrification rate and soil gravimetric water content; z, proportion of nitrified N emitted as N₂O) and soil capacity to reduce N₂O (Rmax). (2) The environmental parameters are the soil temperature, WFPS, nitrate and ammonium contents. NOE has been applied in different areas and climatic contexts (Gabrielle *et al.*, 2006; Hergoualc'h *et al.*, 2009; Petit-Jean, 2013).

V.2.1.2. DNDC (DeNitrification-DeComposition) model

DNDC is a complex biogeochemical model simulating numerous processes of both C and N cycles in cropland soils (Li *et al.*, 1992). To perform simulations, the model requires continuous daily climatic conditions, initial soil physical and chemical parameters and detailed agricultural practices (*e.g.* seedling, tillage and fertilization) as input data. Simulation of N₂O fluxes are resulting from the successive daily simulation of soil variables (including soil nitrogen, carbon and water contents) and microbial denitrification and nitrification activities, as affected by climatic conditions. All these intermediates variables could be used

as outputs from the model. The model is widely used over the world and was used to develop several other models, with different scales of application (Leip *et al.*, 2008) and soil contexts (Li *et al.*, 2000; Kiese *et al.*, 2005; Miehle *et al.*, 2006). Moreover it has been validated in several studies, describing DNDC as more accurate than regression models (Beheydt *et al.*, 2007) and the IPCC emissions factors (Smith *et al.*, 2002).

V.2.2. Experimental data

The database was previously presented in Vermue *et al.* (submitted). Briefly, experimental data (soil characteristics, soil inorganic N, N₂O fluxes) were collected from an experiment at the INRA experimental farm of Dijon-Epoisses (47°20'N, 5°2'E), eastern France, under a semi continental climate and on a 0.9 m depth calcisil. The experiment was dedicated to assess the sustainability of integrated weed management (IWM) systems, i.e. their social, economic and environmental impacts (Munier-Jolain *et al.*, 2009). Measurements of N₂O fluxes and ancillary variables were performed on 4 cropping systems (S1, S2, S3 and S5). S1 was the local conventional reference; S2, S3 and S5 were IWM systems with respectively no tillage, no mechanical weeding and no herbicide treatments. N₂O fluxes observed ranged from -6 to 257 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹ and were significantly higher for the S2 system. All the climatic data were also collected on the experimental site during the study period.

V.2.3. Models parameterization

NOE was used in the conditions defined in the original publication (Hénault *et al.*, 2005). On each system, the soil potential denitrification rate was measured on eight undisturbed soil cores (Dp) according to Hénault and Germon (2000) and the soil capacity to reduce N₂O was estimated on sieved composite of soil according to Hénault *et al.* (2001). The soil potential denitrification rate was estimated in May 2011 in all the systems while the soil capacity to reduce N₂O was estimated in January 2013. The soil nitrification potential previously measured in a site close to the current experimental station (Garrido *et al.*, 2002), was used in the simulation. Biological potentials values used in the simulation are given in Table V.1.

Table V.1: Denitrification potential and Rmax measured for each system.

Cropping system	S1	S2	S3	S5
Denitrification potential (g N-N ₂ O ha ⁻¹ day ⁻¹)	1820 ^b	4036 ^a	1220 ^b	1964 ^b
N ₂ O reduction Rmax	0.69	0.78	0.70	1
Nitrification parameters ¹	a = 19; b = -0.10 ; z = 0.0006 (Hénault <i>et al.</i> , 2005)			

¹ the same nitrification parameters were used for all the systems.

The 9.5 version of DNDC, available online at <http://www.dndc.sr.unh.edu/> (October 2013), was used. Simulations were performed with minimal and maximal air temperatures, rainfall, soil temperature, wind speed, radiation and humidity. Soil initial parameters used for simulation are detailed in Table V.2. Agronomic data required were already detailed in Vermue *et al.*, submitted.

Table V.2: Soil initial parameters used in DNDC.

Cropping system	S1	S2	S3	S5	Unit ¹
Soil type	Clay loam	Clay loam	Clay loam	Clay loam	-
Bulk density	1.48	1.52	1.48	1.47	g cm ⁻³
pH	6.28	6.34	6.40	6.08	-
Field capacity	0.38	0.41	0.38	0.41	cm ³ cm ⁻³
Wilting point	0.22	0.27	0.25	0.27	cm ³ cm ⁻³
Clay fraction	0.43	0.43	0.43	0.44	%
Hydraulic conductivity	0.01	0.01	0.05	0.01	m hr ⁻¹
Porosity	0.44	0.43	0.45	0.48	%
Nitrate content	13.05	5.60	8.55	14.30	mg N kg ⁻¹
Ammonium content	9.08	1.13	7.71	1.15	mg N kg ⁻¹

¹ expressed on a dry soil basis

V.2.4. Statistical criteria

Association and coincidence criteria between simulated and observed data were used to determine the performance of the models (Smith *et al.*, 1996). A high association meant that the model accurately captured the data dynamic while a high coincidence meant that the model accurately reproduced the data range. Pearson correlation (r) and determination coefficient (R^2) were used to assess the association between simulated and measured data while the coincidence was assessed with the root mean square error (RMSE) (1), relative root mean square error (rRMSE) (2) and bias error (BE) (3), calculated from the following formulas (Rafique *et al.*, 2011):

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (S_i - O_i)^2}{n}} \quad (1)$$

$$rRMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (S_i - O_i)^2}{\sum_{i=1}^n (O_i)^2}} \quad (2)$$

$$BE = \frac{\sum_{i=1}^n (O_i - S_i)}{n} \quad (3)$$

where O stands for observed fluxes, S for simulated fluxes and n for the number of observations.

Homogeneity of N₂O fluxes, other simulated variables and biological potentials between systems was tested using Kruskal Wallis tests and Dunn paired groups. All tests were performed with a statistical significance set at 0.05.

V.3. Results & discussion

V.3.1. Performance of the models

V.3.1.1. Simulation of soil environmental parameters with DNDC

Simulated soil temperature with DNDC ranged between 1.30 and 26°C and satisfied both the association and coincidence criteria (Table V.3). Significant correlation ($p < 0.05$) between observed and simulated soil temperature from the database was observed for all the systems ($r > 0.95$). Observed and simulated soil temperatures for systems S1 and S5 were not significantly different ($p < 0.05$). Simulated WFPS ranged from 25 to 93% and only satisfied the association criterion for three systems (Table V.3). No criterion was satisfied for S2 system. Simulated WFPS was globally underestimated by DNDC, especially for S1 and S3

systems, despite being significantly correlated ($p < 0.05$) with measured WFPS for S1 ($r = 0.58$), S3 ($r = 0.38$) and S5 ($r = 0.64$) systems. RMSE of the simulated WFPS were especially high with an average of 16% observed.

In contrast, neither the association nor the coincidence criterion was satisfied by the simulation of soil inorganic N for all the systems (Table V.3). Nitrate and ammonium contents were mostly overestimated, especially for S1 system with BE higher than 100 kg N ha⁻¹, despite being underestimated for S2 system.

Table V.3: Statistical assessment of the environmental parameters simulated with DNDC for the 0-30 cm soil layer of each system in comparison observed data.

Variable	System	<i>r</i>	R ²	RMSE ¹	rRMSE ¹	BE ¹
Temperature	S1	0.98	0.96	1.94	0.00	-1.10
	S2	0.99	0.97	2.01	0.00	-1.70
	S3	0.98	0.95	2.31	0.00	-1.85
	S5	0.97	0.94	2.16	0.00	-0.47
WFPS	S1	0.58	0.34	14.13	0.01	4.64
	S2	NS	NS	14.43	0.01	-4.84
	S3	0.38	0.14	21.03	0.02	18.63
	S5	0.64	0.41	12.55	0.01	-0.42
NO₃⁻ content	S1	NS	NS	140.38	0.47	-138.51
	S2	NS	NS	83.06	0.09	57.88
	S3	NS	NS	98.20	0.49	-88.72
	S5	NS	NS	34.64	0.02	-17.00
NH₄⁺ content	S1	NS	NS	109.07	6.85	-106.88
	S2	NS	NS	10.62	0.08	4.47
	S3	NS	NS	67.81	6.39	-59.77
	S5	NS	NS	99.86	30.50	-99.83

¹ respectively expressed in °C, % and kg N ha⁻¹ for the soil temperature, WFPS and N contents;

² NS = Not Significant

V.3.1.2. Simulation of N₂O emissions with DNDC

The range of the simulated N₂O emissions with DNDC was globally lower than that of emissions previously measured on field, with simulated fluxes ranging from 0 to 74, 81, 95 and 2 g N-N₂O ha⁻¹ for S1, S2, S3 and S5 systems (Fig. V.1). Statistical criterion of

coincidence BE, RMSE and rRMSE were comparable to previously reported with similar use of DNDC (Rafique *et al.*, 2011). However, globally low errors estimated here could be explained by the absence of simulated fluxes with DNDC for most of the days during the studied period. Indeed, a visual comparison between simulated and measured fluxes showed that DNDC failed to reproduce the N₂O emissions kinetics (Fig. V.2). Association criterion was not achieved for the systems S1, S2 and S3 (Table V.4). A significant correlation between simulated and observed N₂O emissions was established only for system S5 ($r = 0.18$), despite significantly lower fluxes simulated ($p < 0.05$).

However, DNDC globally failed to reproduce accurately the daily pedoclimatic conditions of the four cropping systems, which could have biased the simulation of the N₂O emissions. Simulated WFPS was globally lower than observed while WFPS is reported as a key factor affecting N₂O emissions (Dobbie and Smith, 2003), as well as soil moisture (Weitz *et al.*, 2001). Accurate simulation of soil moisture is a key element of the modeling approach (Frolking *et al.*, 1998). Low WFPS may induce unfavorable soil conditions for denitrification and limit N₂O emissions (Linn and Doran, 1984). Similarly, errors in the simulation of N contents, may have greatly affected the simulation of N₂O emissions. N availability is also often described as a main driver of N₂O production in soils (Weitz *et al.*, 2001). Moreover, N fertilization is reported to both increase N₂O emissions by an average of 216 % (Butterbach-Bahl *et al.*, 2013) and alter microbial diversity (Diosma *et al.*, 2006). The underestimation of soil N contents in system S2 may have limited both nitrifying, denitrifying activities and therefore N₂O emissions. In contrast, the overestimation of soil N contents in S1 and S3 systems allowed microbial production of N₂O in soils, though lower than observed. Surprisingly, while DNDC simulated both N contents and WFPS favorable for N₂O emissions for system S5, almost no emission was simulated. Globally the temporal and spatial variability of the N₂O emissions observed were not accurately captured by DNDC. However, DNDC was used with default soil parameters as input while optimization of the soil parameters is reported as improving accuracy of the simulation (Saggar *et al.*, 2007; Rafique *et al.*, 2011).

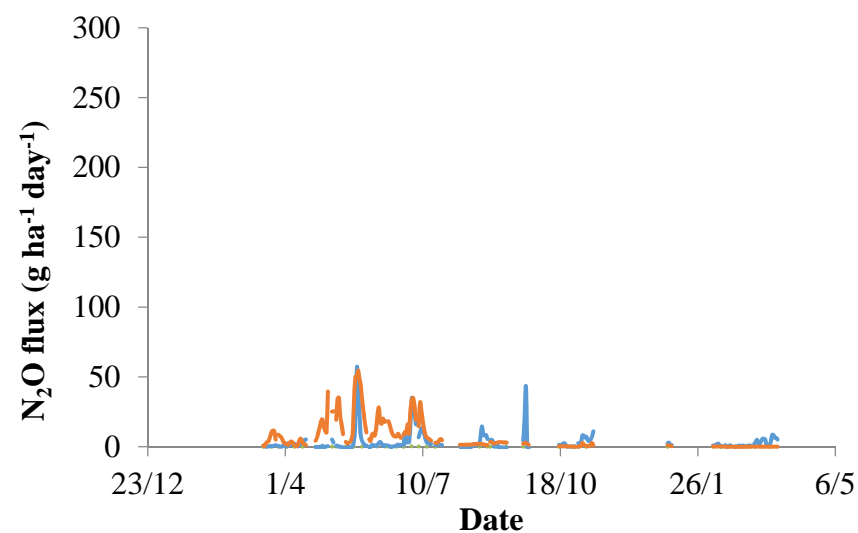
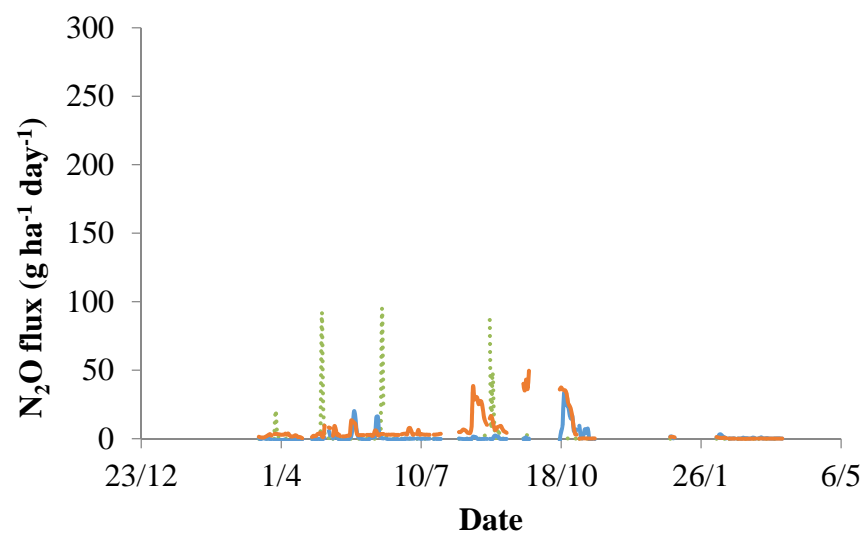
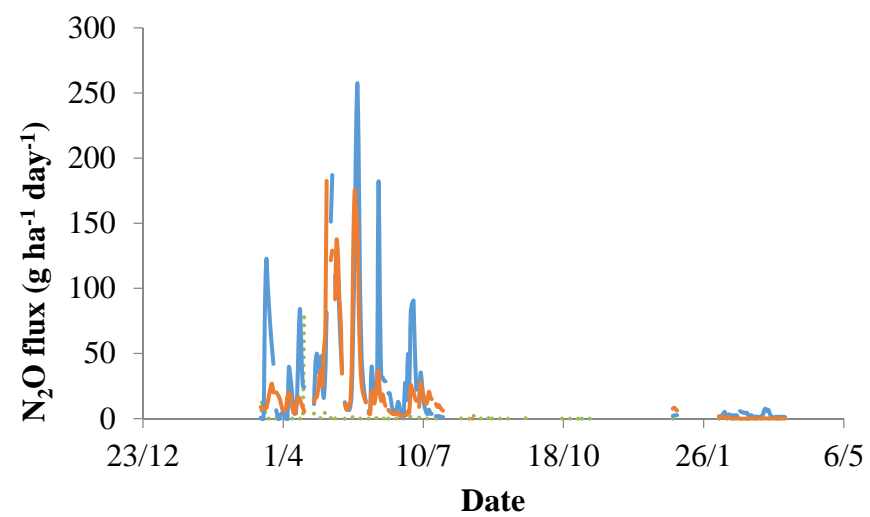
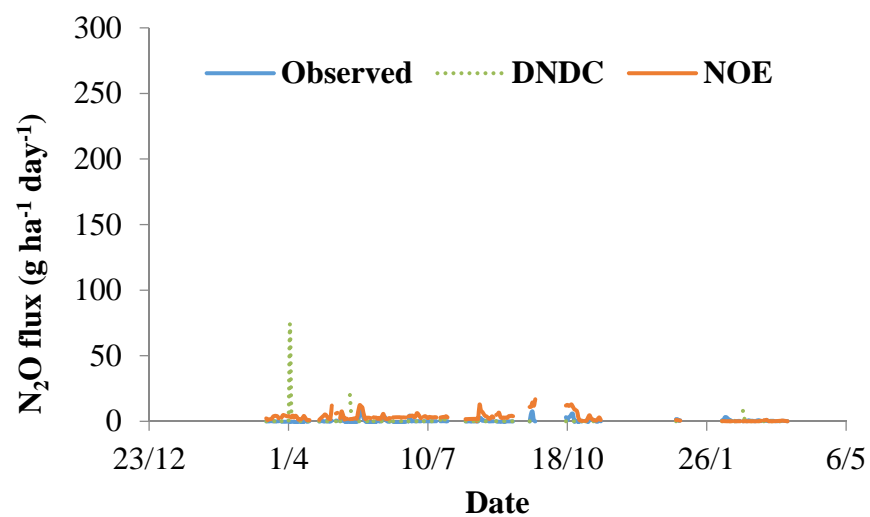


Figure V.1: Comparison between observed and simulated N₂O emissions for S1, S2, S3 and S5 systems using NOE and DNDC models.

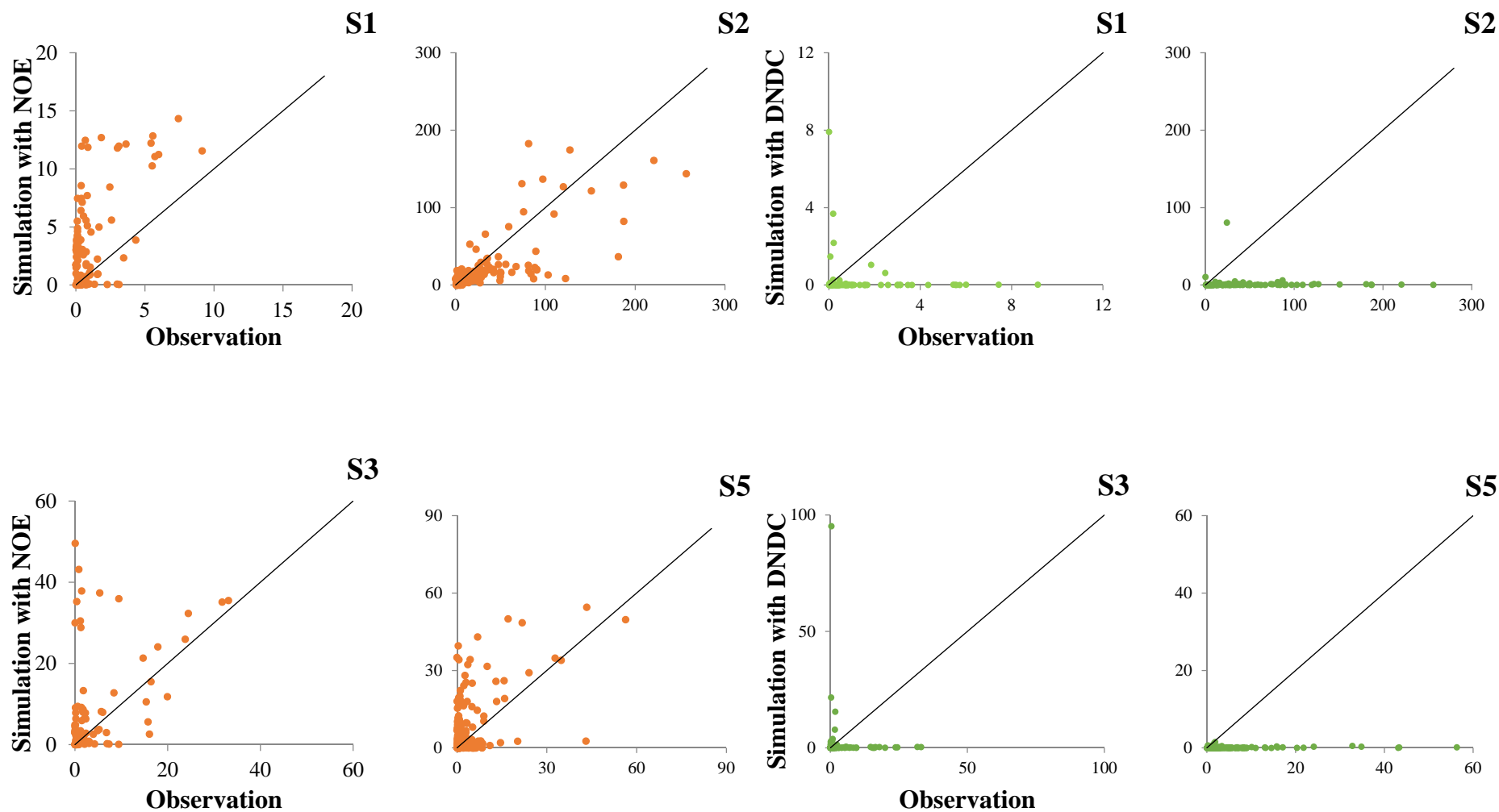


Figure V.2: Confrontation between observed and simulated N_2O emissions using NOE (left) or DNDC (right) models. In each graph, the line correspond to $y = x$.

Table V.4: Statistical assessment of N₂O simulations with NOE and DNDC in comparison with observed N₂O emissions and published data.

Model	Site	<i>r</i>	R ²	RMSE ¹	rRMSE ¹	BE ¹	Reference
NOE	S1	0.50	0.25	3.87	0.26	-3	This study
NOE	S2	0.76	0.58	30.38	0.00	9	
NOE	S3	0.38	0.14	9.99	0.11	-5	
NOE	S5	0.51	0.26	9.96	0.02	-4	
NOE	Overall	0.54	0.31	13.55	0.10	-1	
DNDC	S1	NS ²	NS	5.44	0.51	0	
DNDC	S2	NS	NS	52.76	0.01	27	
DNDC	S3	NS	NS	12.47	0.16	-1	
DNDC	S5	0.18	0.03	7.70	0.01	3	
DNDC	Overall	-	-	19.59	0.17	7	
NOE	French Guiana	0.77		16.80			Petit-jean <i>et al.</i> , 2013.
NOE	Costa Rica	0.45-0.67	0.20-0.45	2.64-9.36			Hergoualc'h <i>et al.</i> , 2009
NOE	France			5.9-38.4		0-5	Gabrielle <i>et al.</i> , 2006
DNDC	South Ireland	0.38-0.61		10.76-52.72	0.64-1.31	-22-12	Rafique <i>et al.</i> , 2011
DNDC	Belgium		0.42-0.68	179-340			Beheydt <i>et al.</i> , 2007
DNDC	Australia		0.36-0.83				Kiese <i>et al.</i> , 2005

¹ RMSE, rRMSE and BE are expressed in g N-N₂O ha⁻¹ d⁻¹.

² NS = Not Significant

V.3.1.3. Simulation of N₂O fluxes with NOE

Simulated emissions ranged between 0 and 17, 182, 50 and 55 g N-N₂O ha⁻¹ day⁻¹, for S1, S2, S3 and S5 systems, respectively (Fig. V.1). Both association and coincidence criterion suggested a higher accuracy of the simulation of N₂O emissions with NOE. Indeed, simulated and observed N₂O fluxes were significantly correlated ($p < 0.0001$) for S1 ($r = 0.50$),

S2 ($r = 0.76$), S3 ($r = 0.38$) and S5 ($r = 0.51$) systems (Table IV.4). RMSE between observed and simulated N_2O emissions with NOE averaged at $13.55 \text{ g N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ day}^{-1}$, which was consistent with previously reported errors. Petit-jean *et al.* (2013), Hergoualc'h (2009) and Gabrielle *et al.* (2007) respectively reported maximum RMSE of 16.80, 9.36 and $38.4 \text{ g N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ day}^{-1}$ with NOE. These errors were induced by both underestimation and overestimation of experimental fluxes. NOE trended to underestimate the denitrifying activity related to high WFPS, what was also stated by Gabrielle *et al.* (2006). It leads to underestimate the intensity of N_2O peaks, especially for system S2, where a maximum BE and RMSE of 9 and $30.38 \text{ g N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ day}^{-1}$ were observed. However, the system S2 showed the lowest rRMSE, with $0.00 \text{ g N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ day}^{-1}$, while the average rRMSE was $0.10 \text{ g N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ day}^{-1}$. In contrast, NOE trended to overestimate the nitrification activity for all cropping systems. The overestimation was particularly visible for the systems S1, S3 and S5 where a BE of respectively -3, -5 and $-4 \text{ g N-N}_2\text{O ha}^{-1} \text{ day}^{-1}$ was observed. However, the nitrification potential values used in the simulation were not estimated directly on site, but in a close area (Hénault *et al.*, 2005), which may have introduced a bias.

V.3.2. Analyzing N_2O emissions determinism with models

V.3.2.1. Main regulation factors of N_2O emissions simulated with NOE

Maximum N_2O fluxes were simulated in spring, during fertilization periods, which was consistent with field observations (Dobbie *et al.*, 1999). N_2O emissions simulated with NOE from S1, S2 and S3 systems appeared to be highly correlated with soil N content (Table IV.5), which is usually observed in fertilized soils (Abdalla *et al.*, 2009).

Table V.5: Pearson correlation (r) between simulated N_2O emissions with NOE and functions rendering temperature (F_T), nitrate (F_N) and water (F_W) effects, and average observed values.

Cropping system	F_N	NO_3^{-1}	NH_4^{+1}	F_W	WFPS ¹	F_T	Temperature ¹
S1	0.48	46 ± 23	9 ± 11	0.30	64 ± 4	0.46	12.4
S2	0.66	64 ± 65	41 ± 1	0.22	68 ± 3	0.32	12.6
S3	0.47	31 ± 25	6 ± 10	NS ¹	66 ± 7	0.42	12.4
S5	0.14	53 ± 32	4 ± 3	0.73	63 ± 5	0.44	13.0

¹ Temperature, soil NO_3^- and NH_4^+ contents and WFPS are respectively expressed in °C, $kg N ha^{-1}$ and %

² Non Significant

Interestingly, soil N contents poorly affected N₂O emissions in the unfertilized system S5, despite being comparable to that of fertilized soils. NOE simulated N₂O Emissions from the S5 system as mainly determined by the water contents (Table 5). However, rain events during fertilization periods may temporary increase WFPS and induce N₂O emissions peaks (Dobbie and Smith, 2003). Significant correlation between F_W and simulated N₂O emissions was also observed for S1 and S2 systems while no correlation was found for system S3 (Table V.5). Temperature also had a significant effect on N₂O emissions from each system, which is consistent with its usual effect on denitrification (Abdalla *et al.*, 2009). High temperatures are usually associated with high emissions (Schaufler *et al.* 2010), what was observed in spring and summer on field. On the contrary low temperatures may have limited microbial activities in autumn and winter (Avrahami *et al.*, 2003).

V.3.2.2. Impact of the soil management on N₂O emissions

The modeling approach led to insightful characterization of main factors of N₂O emissions regulation and estimations of the N₂O budget of each system. Although DNDC failed to render observed field observations (Table V.6), default simulations of N₂O emissions being not in line with other studies (Kiese *et al.*, 2005; Beheydt *et al.*, 2007). In contrast, NOE accurately captured the temporal variability of the emissions, highlighting the importance of site specific parameterization of NOE (Hergoualc'h *et al.*, 2009). Moreover, NOE identified the no tillage (NT) system S2 as the most N₂O emitting system with a total emission of 3209 g N-N₂O ha⁻¹ emitted (Table V.6) in comparison with the three conventionally tilled (CT) systems (S1, S3, and S5).

Table V.6: Comparison between cumulated observed and simulated N₂O emissions (g N-N₂O ha⁻¹) with NOE and DNDC models with Dunn groups (P < 0.05).

Cropping system	Number of observations	Observed ¹	NOE ¹	DNDC ¹
S1	227	81 ^c	706 ^b	147
S2	163	4672 ^a	3209 ^a	166
S3	227	328 ^c	1360 ^b	461
S5	227	756 ^b	1596 ^b	13

¹ cumulated N₂O emissions for one-year study calculated without extrapolation during gaps, expressed in g N-N₂O ha⁻¹

NT systems are commonly reported to enhance N₂O emissions over CT systems, especially in first years (Six *et al.*, 2004; Oorts *et al.*, 2007). NOE simulated an average additional emission of 2 kg N-N₂O ha⁻¹ while an average of 1.95 kg N-N₂O ha⁻¹ is usually observed over on year in temperate soils (Six *et al.*, 2002). Maximum N₂O emissions being observed for S2 system was also consistent with field observations, despite underestimation with NOE. This confirms the potential use of NOE to estimate N₂O emissions from different cropping systems and the impact of different agricultural practices (Gabrielle *et al.*, 2006).

V.4. Conclusions

The original confrontation between simulated N₂O emissions and continuously measured data allowed a high confidence in the statistical assessment of the models to be reached. Globally simulation of N₂O emissions performed with NOE was more accurate than with DNDC. However the simulation of N₂O emissions with DNDC could be enhanced with an optimization of the soil parameters or software version, and/or an expertise. In contrast, NOE reproduced the dynamic of N₂O emissions observed on field, allowing main regulation factors to be identified. Significant effects of soil N contents, moisture and temperature on N₂O emissions were highlighted. Moreover, accurately NOE identified the no-till system S2 as significantly most emitter over the conventionally tilled systems, confirming the interest of the modeling approach, both to estimate and analyze N₂O budget in different agricultural soils.

Acknowledgements

This work was funded by the Burgundy Region and the ANR SYSTERRA.

Conclusions Générales & Perspectives

Quels étaient les objectifs de travail et les moyens mis en œuvre pour les atteindre ?

Dans le cadre de l'évaluation multicritère des systèmes en protection intégrée contre les adventices (PIC-Adventices), ce travail de thèse avait pour objectif d'évaluer l'impact de ces systèmes sur les émissions de N_2O par les sols. Quatre systèmes de culture ont été étudiés, un système de référence en agriculture raisonnée maximisant les résultats économiques (S1) et trois systèmes PIC-Adventices (S2, S3, S5). Ces systèmes ont été mis en place en 2000 sur le site expérimental INRA Dijon-Epoisses (47°20'N, 5°2'E), sur un sol argilo-calcaire d'une profondeur de 0.9 m.

- ❖ Dans un premier temps, il s'est agi de caractériser l'intensité des émissions de N_2O par le sol de chacun des systèmes et d'en étudier la variabilité. Deux dispositifs de mesure en continu des flux de N_2O , basés sur la méthode des chambres au sol et l'utilisation d'analyseurs infrarouge ont pour cela été mis en place sur le site. En parallèle, le suivi des paramètres physicochimiques des sols (densité apparente, teneur en azote minéral, température, humidité volumique) et des conditions climatiques (pluviométrie, température) a été effectué ;
- ❖ Le travail a ensuite consisté à confronter la variabilité des émissions observées dans chacun des systèmes à celle de la taille des communautés microbiennes impliquées dans ces émissions, ainsi que celles des paramètres physico-chimiques du sol ;
- ❖ Enfin, dans le but d'évaluer notre compréhension des émissions de N_2O par les sols du site expérimental, deux modèles d'émissions ont été utilisés : NOE et DNDC. Il s'est agi alors de simuler des flux de N_2O pour les quatre systèmes de culture à partir des données recueillies et de les confronter aux flux mesurés.

Quels sont les facteurs déterminants pour la dynamique et l'intensité des émissions de N_2O dans le contexte de systèmes de culture conduits en protection intégrée contre la flore adventice?

❖ Facteurs climatiques

Le suivi en continu des émissions de N_2O , pendant 7 mois pour 2 systèmes de culture en 2011 (**Chapitre IV**) puis pendant 1 an pour 4 systèmes de culture en 2012 (**Chapitre III**), a permis d'identifier les principaux facteurs de régulation pour un sol très argileux de la plaine Dijonnaise. Il s'est avéré que le N_2O était principalement émis par les sols lors de courtes périodes (quelques jours), au printemps et en été. Ces saisons sont souvent propices aux

émissions de N_2O , en raison des conditions climatiques favorables et des interventions culturales qui y sont réalisées. Au printemps, les émissions de N_2O sont généralement amplifiées par les précipitations abondantes suite aux apports de fertilisants azotés (Hénault *et al.*, 1998; Dobbie *et al.*, 1999; Avrahami et Bohannan, 2009). En été, les températures douces (Avrahami *et al.*, 2003) et la dégradation des résidus de culture après les récoltes (WagnerRiddle *et al.*, 1997; Velthof *et al.*, 2002; Rochette *et al.*, 2004) peuvent également favoriser les émissions de N_2O .

Dans notre étude, bien qu'aucun pic n'ait été observé immédiatement après les apports d'azote, la majeure partie des émissions de N_2O a eu lieu pendant les périodes de fertilisation ou après la récolte. Dans le contexte d'un sol particulièrement sec en 2011 (**Chapitre IV**), les faibles précipitations ont conduit à la réhumidification temporaire des sols, généralement inductrice de pics d'émission. Les précipitations, plus importantes en 2012 (**Chapitre III**), ont par ailleurs régulièrement placé les sols dans des conditions favorables à la dénitrification et aux émissions de N_2O , la part de la porosité occupée par l'eau dépassant 62% (Linn and Doran, 1984; Grundmann and Rolston, 1987). En définitive, les conditions climatiques ont joué un rôle déterminant dans l'intensité des émissions observées, que ce soit lors d'une année plutôt sèche (2011) ou lors d'une année plutôt humide (2012) et ce, quel que soit le système étudié.

❖ Modalité de gestion des sols

En sus de la variabilité temporelle induite par l'action des facteurs climatiques, le suivi en continu des émissions de N_2O a également permis de mettre en évidence des différences significatives entre les systèmes de culture étudiés. Malgré les limites du dispositif expérimental (avec absence de mesures effectuées pour les 2 répétitions des systèmes de culture mais prise en compte de l'hétérogénéité spatiale contrainte par les aspects techniques pour chaque système de culture étudié) notre étude suggère un fort impact des pratiques agricoles sur l'intensité des émissions de N_2O par les sols. En particulier, la combinaison des pratiques mises en place pour le système de culture S2, en protection intégrée et caractérisé par l'absence de travail du sol depuis 2008, amplifie significativement les émissions de N_2O , en l'occurrence d'un facteur d'au moins 6 par rapport aux autres systèmes pour l'année 2012 (**Chapitre III**). Or, d'après la littérature, un tel niveau d'émission, équivalent à une émission de $0.7 \text{ t C-CO}_2 \text{ ha}^{-1}$, suggère une probable compensation du stockage de carbone additionnel dans le sol habituellement observé pour les systèmes de culture sans travail du sol (Freibauer

et al., 2004). Cependant, la pluviométrie importante observée pour cette année 2012 a très probablement accentué les émissions de N₂O, qui n'auraient probablement pas été observées dans le cas d'une année climatique standard. Par ailleurs, si les systèmes de culture sans travail du sol présentent généralement des émissions accrues de N₂O par rapport à des situations où les pratiques de travail du sol sont conventionnelles (Smith *et al.*, 2002), ces différences ont essentiellement lieu durant les premières années suivant la conversion en semis direct. Par la suite, la différence d'émission entre les systèmes incluant un labour régulier et les systèmes sans travail du sol tend à s'estomper, voire à s'inverser (Smith *et al.*, 2004). Or, le système de culture S2 n'a été converti en semis direct que 5 ans auparavant. Aussi, il pourrait être intéressant de mettre en place des campagnes de mesure dans le futur pour étudier la dynamique et l'intensité des émissions de ces systèmes de culture et en particulier du système S2 et confirmer ou pas les tendances observées dans la littérature pour nos conditions pédoclimatiques.

❖ La nature des cultures

Pour les systèmes de culture étudiés les émissions de N₂O sont également affectées par la diversification des successions culturales dans le cadre de la protection intégrée contre les adventices. L'introduction de légumineuses a notamment conduit à une amplification des émissions, aussi bien en culture (**Chapitre III**), qu'en plante de couverture (**Chapitre IV**). Les légumineuses ont en effet la particularité de fixer l'azote et d'avoir un ratio carbone/azote bas. Cependant, lors de la décomposition des résidus de culture de légumineuses, l'azote est libéré dans le sol et peut stimuler les émissions de N₂O (Baggs *et al.*, 2000; Rochette *et al.*, 2004). Ainsi, en 2011, l'introduction de la lentille en tant que plante de couverture dans le système S3 et sa destruction lors de la récolte a induit des pics d'émissions de N₂O (**Chapitre IV**). Similairement, en 2012, l'introduction de la luzerne dans la succession culturale du système S5 a pu enrichir le sol en azote, contribuant à des émissions de N₂O significativement plus fortes que celles observées pour les systèmes S1 et S3 (**Chapitre III**).

En revanche cette altération ne semble pas affecter les sols sur le long terme, aucune différence n'ayant été observée entre les émissions de N₂O des systèmes S1 et S3 en 2012 (**Chapitre III**). Par conséquent, il serait là encore intéressant d'étudier ces systèmes sur une rotation complète, de façon à prendre en compte les variations d'émissions liées à la culture en place et à estimer l'impact global des systèmes sur les émissions de N₂O. Ces mesures pourraient être également utilement complétées par des données acquises pour des cultures de

légumineuses pures où seraient effectués des bilans d'azote impliquant des mesures de pertes pendant la culture de légumineuses et dans l'année qui suit sa destruction. De telles données seront notamment acquises au cours du programme ANR Legitimes qui se mettra en place à partir de 2014 pour 10 espèces légumineuses sur le site expérimental de l'INRA à Bretenière (A.S. Voisin *et al.*, UMR Agroécologie).

Quel est l'impact des systèmes de culture en protection intégrée contre les adventices sur la dynamique et la taille des communautés microbiennes impliquées dans les émissions de N₂O et leurs conséquences sur ces émissions ?

Le suivi mensuel des abondances de gènes microbiens reflétant la taille des communautés bactériennes (16S) et archéennes (CRE) ainsi que des gènes impliqués dans la production de N₂O dans les sols (nirK, nirS, nosZ, AOA, AOB) a permis l'identification de motifs saisonniers qui sont finalement comparables à ceux mis en évidence dans de précédentes études (Bardgett *et al.*, 1999; Novinscak *et al.*, 2012) (**Chapitre IV**). Ces variations à long terme correspondent généralement à une réponse aux conditions climatiques changeantes (Pereira e Silva *et al.*, 2012), telles qu'une hausse des températures (Pietikainen *et al.*, 2005) ou des précipitations (Cruz-Martinez *et al.*, 2012).

Néanmoins des variations de taille de communautés plus importantes et plus rapides ont été enregistrées, induites vraisemblablement par les interventions culturales (Yu *et al.*, 2011). Suite à la récolte du colza, pour les systèmes S1 et S3, une réduction drastique de la taille des communautés microbiennes, qui ont diminué de moitié, a notamment été observée, très probablement en raison d'une modification des exsudats racinaires comme cela a été démontré pour différentes études (Bais *et al.* 2006; Medeiros *et al.*, 2006). Un effet similaire du labour a également été observé. Cela confirme par ailleurs l'impact négatif des opérations de travail du sol sur la taille des communautés microbiennes comme cela a été mis en évidence lors de différents travaux (Bruns *et al.*, 1999; Feng *et al.*, 2003; Helgason *et al.*, 2010). De manière générale, les communautés microbiennes dénitrifiantes et nitrifiantes semblent avoir été affectées de manière identique, à l'exception près des bactéries oxydant l'ammonium caractérisées par le gène AOB. L'abondance du gène AOB a été particulièrement marquée par les pratiques agricoles, confirmant ainsi son utilisation potentielle en tant que bioindicateur des changements opérés dans les systèmes de culture (Wessen et Hallin, 2011).

En revanche, pour des conditions pédoclimatiques défavorables aux émissions de N_2O , le lien entre intensité des émissions et taille des communautés microbiennes n'a pu être établi. Ceci suggère la primauté des conditions pédoclimatiques dans la régulation de l'intensité de l'activité microbienne nitrifiante et dénitrifiante. Les abondances de gènes impliqués dans les processus de production de N_2O ne sont donc pas apparues, dans cette étude, comme un élément explicatif de l'intensité des émissions par les sols. Cependant, alors qu'il n'était pas envisageable d'effectuer un suivi des communautés microbiennes pour tous les systèmes pour des raisons techniques, il pourrait être intéressant de reprendre cette étude pour les 2 systèmes présentant des différences plus importantes en terme d'émissions de N_2O . Aux vues des émissions observées pour les 4 systèmes de culture (**Chapitre III**), il serait aujourd'hui plus judicieux de suivre en parallèle la dynamique des émissions et celle des communautés microbiennes impliquées dans ces émissions pour le système de culture S2 et le système de référence S1.

Quelle est la capacité des modèles d'émissions de N_2O , NOE et DNDC, à restituer la dynamique des flux observée pour chaque système et à en identifier les principaux facteurs de régulation ?

La confrontation des émissions de N_2O simulées par NOE et DNDC aux données mesurées en continu a permis de réaliser un traitement statistique approfondi des résultats (**Chapitre V**).

La performance des modèles et la qualité de chaque simulation ont été évaluées selon des critères d'association et de coïncidence avec la méthodologie proposée par Smith *et al.* (1996). Globalement, le modèle NOE s'avère plus performant que le modèle DNDC dans le cadre de cette étude. La qualité des simulations réalisées avec le modèle DNDC dans sa version 9.5, est cependant apparue en dessous de celle généralement observée dans la littérature (Kiese *et al.*, 2005; Beheydt *et al.*, 2007). L'optimisation des paramètres initiaux décrivant le sol dans le modèle DNDC pourrait améliorer notablement la précision des simulations comme cela a été mis en évidence pour différentes études (Saggar *et al.*, 2007; Rafique *et al.*, 2011). L'étude initiée dans ce travail de thèse avec ce modèle nécessitera donc d'être poursuivie en incluant notamment le jeu de données qui a continué et continuera d'être acquis sur ce dispositif pour la période comprise entre mars 2013 et février 2014.

Concernant le modèle NOE, les simulations ont correctement reproduit la dynamique des émissions de N_2O observée pour les sols argileux du dispositif PIC adventice du domaine site expérimental de Bretenière, permettant l'identification des principaux facteurs de régulation

des émissions. Un effet significatif de la teneur en azote minéral du sol, de l'humidité et de la température du sol a pu être mis en évidence, tel que cela a été habituellement observé lors des nombreux travaux publiés (par ex. Weitz *et al.*, 2001). De surcroît, le modèle NOE a bien identifié le système de culture S2, non labouré, comme présentant le plus de risque d'émissions de N₂O, conformément aux observations de terrain et aux très nombreuses études publiées (Six *et al.*, 2002). Les simulations réalisées avec le modèle NOE confirment donc la pertinence de la modélisation comme outil pour estimer et analyser les émissions de N₂O dans différents systèmes de culture (Gabrielle *et al.*, 2006), modèle qui peut donc s'avérer très utile pour simuler l'effet de scénarios agronomiques sur la dynamique et l'intensité des flux à différentes échelles spatiales (parcelle vs. territoire) et temporelles (cycle cultural vs. succession culturale).

Quels sont les livrables proposés au terme de cette étude ?

Finalement notre étude aura permis la mise en place d'un dispositif de mesure en continu fonctionnel et robuste, permettant d'acquérir sur le terrain des données expérimentales telles que les flux de gaz à effet de serre par les sols (N₂O et CO₂), la température et l'humidité volumique des sols. La continuité des mesures permet l'assurance d'une bonne prise en compte de la variabilité temporelle de ces variables. Les flux de CO₂ mesurés au cours de cette étude n'ont pas été valorisés. Une des principales raisons est la confusion de l'origine des variations de concentration en CO₂ dans les chambres de mesure entre celles découlant des émissions par le sol et celles induites par la respiration des plantes pendant la durée de fermeture des enceintes, la photosynthèse étant inopérante pendant la durée de la mesure. Pour des mesures à venir, un protocole rigoureux, incluant la coupe régulière des plantes à l'intérieur des chambres couplé à l'utilisation d'herbicides, pourrait éventuellement être défini dans la perspective de mieux prendre en compte les flux de CO₂. Dans notre étude, l'objectif était de minimiser la perturbation induite par la mise en place des enceintes automatiques sur le fonctionnement biologique du sol à l'intérieur des chambres, que l'on a souhaité être aussi proche que possible du fonctionnement du sol sur le reste de la parcelle afin de ne pas affecter la représentativité des émissions de N₂O mesurées.

En définitive, nos mesures conduites sur le dispositif expérimental PIC-adventices ont, dès à présent, permis la constitution d'une base de données originale pour une période globale d'un an et demi pour quatre systèmes (2 ans sur les deux premiers systèmes). Complétée par des données mesurées ponctuellement sur le terrain, cette base a fait l'objet d'une publication

(**Chapitre IV**), et d'un article soumis pour publication (**Chapitre III**). Par ailleurs, un troisième article (**Chapitre V**) valorisant cette base de données en la confrontant à des données simulées, requiert une expertise du modèle DNDC qui pourra éventuellement être mise en place dans le cadre d'une collaboration scientifique et qui permettra de publier nos résultats. Ce jeu de données sera complété par les mesures qui seront acquises sur ce même dispositif jusqu'en février 2014. La base de données complète sera ultérieurement mise à disposition de la communauté scientifique au travers des réseaux de recherche ou de programmes de recherche nationaux ou internationaux qui se mettront en place.

Références bibliographiques

- Abdalla, M., Jones, M., Smith, P. and Williams, M. (2009). Nitrous oxide fluxes and denitrification sensitivity to temperature in Irish pasture soils. *Soil Use and Management* 25(4): 376-388.
- AFNOR (2007). Norme NF ISO 14256-2. Qualité du sol - Dosage des nitrates, des nitrites et de l'ammonium dans des sols bruts par extraction avec une solution de chlorure de potassium - Partie 2 : méthode automatisée avec analyse en flux segmenté. Afnor, Paris..
- Akiyama, H., Hayakawa, A., Sudo, S., Yonemura, S., Tanonaka, T. and Yagi, K. (2009). Automated sampling system for long-term monitoring of nitrous oxide and methane fluxes from soils. *Soil Science and Plant Nutrition* 55(3): 435-440.
- Altner, G., Baggiolini, M., Celli, G., Schneider, F. and Steiner, H. (1977). La protection intégrée, une technique d'appoint, conduisant à la production intégrée. *IOBC WPRS Bull./ Bull. OILB SROP* 4: 118-129.
- Angiras, N. N. and Singh, C. M. (1989). Economic analysis of integrated weed management in maize. *Indian Journal of Weed Science* 21(3-4): 29-36.
- Anonymous (2009). Reaping the benefits: Science and the sustainable intensification of global agriculture. London, The Royal Society.
- Anonymous (2013). Agriculture intégrée: Valoriser l'agronomie pour des systèmes plus autonomes. Guide pratique 2013. *Agricultures & Territoires*. Chambres d'agriculture Champagne-Ardenne.
- Anthony, W. H., Hutchinson, G. L. and Livingston, G. P. (1995). Chamber measurement of soil-atmosphere gas-exchange - linera vs diffusion-based flux models. *Soil Science Society of America Journal* 59(5): 1308-1310.
- Attoumani-ronceux, A., Aubertot, J. N., Guichard, L., Jouy, L., Mischler, P., Omon, B., Petit, M. S., Pleyber, E., Reau, R. and Seiler, A. (2011). Guide pratique pour la conception de systèmes de culture plus économes en produits phytosanitaires.
- Austin, A. T., Yahdjian, L., Stark, J. M., Belnap, J., Porporato, A., Norton, U., Ravetta, D. A. and Schaeffer, S. M. (2004). Water pulses and biogeochemical cycles in arid and semiarid ecosystems. *Oecologia* 141(2): 221-235.
- Avrahami, S. and Bohannan, B. J. M. (2009). N₂O emission rates in a California meadow soil are influenced by fertilizer level, soil moisture and the community structure of ammonia-oxidizing bacteria. *Global Change Biology* 15(3): 643-655.
- Avrahami, S., Liesack, W. and Conrad, R. (2003). Effects of temperature and fertilizer on activity and community structure of soil ammonia oxidizers. *Environmental Microbiology* 5(8): 691-705.
- Baath, E. and Arnebrant, K. (1994). Growth-rate and response of bacterial communities to pH in limed and ash treated forest soils. *Soil Biology & Biochemistry* 26(8): 995-1001.
- Baggs, E. M. (2008). A review of stable isotope techniques for N₂O source partitioning in soils: recent progress, remaining challenges and future considerations. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 22(11): 1664-1672.
- Baggs, E. M. and Philippot, L. (2011). Nitrous oxide production in the terrestrial environment. *Nitrogen Cycl. In Bacteria: Molecular Analysis*. C. A. Press. England: 211-232.
- Baggs, E. M., Rees, R. M., Smith, K. A. and Vinten, A. J. A. (2000). Nitrous oxide emission from soils after incorporating crop residues. *Soil Use and Management* 16(2): 82-87.
- Baggs, E. M., Stevenson, M., Pihlatie, M., Regar, A., Cook, H. and Cadisch, G. (2003). Nitrous oxide emissions following application of residues and fertiliser under zero and conventional tillage. *Plant and Soil* 254(2): 361-370.
- Bailey, A. S., Bertaglia, M., Fraser, I. M., Sharma, A. and Douarin, E. (2009). Integrated pest management portfolios in UK arable farming: results of a farmer survey. *Pest Management Science* 65(9): 1030-1039.
- Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S. and Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*. Palo Alto, Annual Reviews. 57: 233-266.
- Bajwa, W. I. and Kogan, M. (2002). Compendium of IPM Definitions (CID) Oregon State University, Corvallis

- Bardgett, R. D., Lovell, R. D., Hobbs, P. J. and Jarvis, S. C. (1999). Seasonal changes in soil microbial communities along a fertility gradient of temperate grasslands. *Soil Biology & Biochemistry* 31(7): 1021-1030.
- Bateman, E. J. and Baggs, E. M. (2005). Contributions of nitrification and denitrification to N₂O emissions from soils at different water-filled pore space. *Biology and Fertility of Soils* 41(6): 379-388.
- Beauchamp, E. G. (1997). Nitrous oxide emission from agricultural soils. *Canadian Journal of Soil Science* 77(2): 113-123.
- Beheydt, D., Boeckx, P., Sleutel, S., Li, C. S. and Van Cleemput, O. (2007). Validation of DNDC for 22 long-term N₂O field emission measurements. *Atmospheric Environment* 41(29): 6196-6211.
- Berkowitz, A. R. (1988). Competition for resources in weed-crop mixtures.
- Beulke, S. and Malkomes, H. P. (2001). Effects of the herbicides metazachlor and dinoterb on the soil microflora and the degradation and sorption of metazachlor under different environmental conditions. *Biology and Fertility of Soils* 33(6): 467-471.
- Blackmer, A. M. and Bremner, J. M. (1978). Inhibitory effect of nitrate on reduction of N₂O to N₂ by soil-microorganisms. *Soil Biology & Biochemistry* 10(3): 187-191.
- Bouwman, A. F. (1996). Direct emission of nitrous oxide from agricultural soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 46(1): 53-70.
- Braker, G. and Conrad, R. (2011). Diversity, Structure, and Size of N₂O-Producing Microbial Communities in Soils-What Matters for Their Functioning? *Advances in Applied Microbiology*, Vol 75. A. I. Laskin, S. Sariaslani and G. M. Gadd. San Diego, Elsevier Academic Press Inc. 75: 33-70.
- Braker, G. and Tiedje, J. M. (2003). Nitric oxide reductase (norB) genes from pure cultures and environmental samples. *Applied and Environmental Microbiology* 69(6): 3476-3483.
- Braker, G., Zhou, J. Z., Wu, L. Y., Devol, A. H. and Tiedje, J. M. (2000). Nitrite reductase genes (nirK and nirS) as functional markers to investigate diversity of denitrifying bacteria in Pacific Northwest marine sediment communities. *Applied and Environmental Microbiology* 66(5): 2096-2104.
- Bru, D., Ramette, A., Saby, N. P. A., Dequiedt, S., Ranjard, L., Jolivet, C., Arrouays, D. and Philippot, L. (2011). Determinants of the distribution of nitrogen-cycling microbial communities at the landscape scale. *Isme Journal* 5(3): 532-542.
- Bruns, M. A., Stephen, J. R., Kowalchuk, G. A., Prosser, J. I. and Paul, E. A. (1999). Comparative diversity of ammonia oxidizer 16S rRNA gene sequences in native, tilled, and successional soils. *Applied and Environmental Microbiology* 65(7): 2994-3000.
- Buhler, D. D. (2002). Challenges and opportunities for integrated weed management. *Weed Science* 50(3): 273-280.
- Buhler, D. D., Gunsolus, J. L. and Ralston, D. F. (1992). Integrated weed management-techniques to reduce herbicide inputs in soybean. *Agronomy Journal* 84(6): 973-978.
- Butterbach-Bahl, K., Baggs, E. M., Dannenmann, M., Kiese, R. and Zechmeister-Boltenstern, S. (2013). Nitrous oxide emissions from soils: how well do we understand the processes and their controls? *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 368(1621).
- Cantarel, A. A. M., Bloor, J. M. G., Pommier, T., Guillaumaud, N., Moirrot, C., Soussana, J. F. and Poly, F. (2012). Four years of experimental climate change modifies the microbial drivers of N₂O fluxes in an upland grassland ecosystem. *Global Change Biology* 18(8): 2520-2531.
- Carney, K. M., Matson, P. A. and Bohannon, B. J. M. (2004). Diversity and composition of tropical soil nitrifiers across a plant diversity gradient and among land-use types. *Ecology Letters* 7(8): 684-694.
- Ceschia, E., Beziat, P., Dejoux, J. F., Aubinet, M., Bernhofer, C., Bodson, B., Buchmann, N., Carrara, A., Cellier, P., Di Tommasi, P., Elbers, J. A., Eugster, W., Grunwald, T., Jacobs, C. M. J., Jans, W. W. P., Jones, M., Kutsch, W., Lanigan, G., Magliulo, E., Marloie, O., Moors, E. J., Moureaux, C., Oliso, A., Osborne, B., Sanz, M. J., Saunders, M., Smith, P., Soegaard, H. and Wattenbach, M. (2010). Management effects on net ecosystem carbon and GHG budgets at European crop sites. *Agriculture Ecosystems & Environment* 139(3): 363-383.

- Chauvel, B., Tschudy, C. and Munier-Jolain, N. (2011). Integrated management of the weed flora in low-tillage farming systems. *Cahiers Agricultures* 20(3): 194-203.
- Chen, D. L., Li, Y., Grace, P. and Mosier, A. R. (2008). N₂O emissions from agricultural lands: a synthesis of simulation approaches. *Plant and Soil* 309(1-2): 169-189.
- Chen, H. H., Li, X. C., Hu, F. and Shi, W. (2013). Soil nitrous oxide emissions following crop residue addition: a meta-analysis. *Global Change Biology* 19(10): 2956-2964.
- Chen, X.-P., Cui, Z.-L., Vitousek, P. M., Cassman, K. G., Matson, P. A., Bai, J.-S., Meng, Q.-F., Hou, P., Yue, S.-C., Römhild, V. and Zhang, F.-S. (2011). Integrated soil-crop system management for food security. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108(16): 6399-6404.
- Cheneby, D., Brauman, A., Rabary, B. and Philippot, L. (2009). Differential Responses of Nitrate Reducer Community Size, Structure, and Activity to Tillage Systems. *Applied and Environmental Microbiology* 75(10): 3180-3186.
- Cheneby, D., Bru, D., Pascault, N., Maron, P. A., Ranjard, L. and Philippot, L. (2010). Role of Plant Residues in Determining Temporal Patterns of the Activity, Size, and Structure of Nitrate Reducer Communities in Soil. *Applied and Environmental Microbiology* 76(21): 7136-7143.
- Chervet, A., Ramseier, L., Sturny, W. G., Weisskopf, P., Zihlmann, U., Muller, M. and Schafflutz, R. (2006). Soil water under no-tillage and ploughing
- Humidite du sol en semis direct et sous labour. *Revue Suisse d'Agriculture* 38(4): 185-192.
- Chikowo, R., Faloya, V., Petit, S. and Munier-Jolain, N. M. (2009). Integrated Weed Management systems allow reduced reliance on herbicides and long-term weed control. *Agriculture Ecosystems & Environment* 132(3-4): 237-242.
- Christensen, S., Ambus, P., Arah, J. R. M., Clayton, H., Galle, B., Griffith, D. W. T., Hargreaves, K. J., Klemetsson, L., Lind, A. M., Maag, M., Scott, A., Skiba, U., Smith, K. A., Welling, M. and Wienhold, F. G. (1996). Nitrous oxide emission from an agricultural field: Comparison between measurements by flux chamber and micrometeorological techniques. *Atmospheric Environment* 30(24): 4183-4190.
- CITEPA (2013). Inventaire des émissions de polluants atmosphériques et de gaz à effet de serre en France. Rapport SECTEN - Avril 2012.
- Clayton, H., Arah, J. R. M. and Smith, K. A. (1994). Measurement of nitrous-oxide emissions from fertilized grassland using closed chambers. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* 99(D8): 16599-16607.
- Clayton, H., McTaggart, I. P., Parker, J., Swan, L. and Smith, K. A. (1997). Nitrous oxide emissions from fertilised grassland: A 2-year study of the effects of N fertiliser form and environmental conditions. *Biology and Fertility of Soils* 25(3): 252-260.
- Clements, D. R., Weise, S. F. and Swanton, C. J. (1994). Integrated weed management and weed species-diversity. *Phytoprotection* 75(1): 1-18.
- Cole, C. V., Duxbury, J., Freney, J., Heinemeyer, O., Minami, K., Mosier, A., Paustian, K., Rosenberg, N., Sampson, N., Sauerbeck, D. and Zhao, Q. (1997). Global estimates of potential mitigation of greenhouse gas emissions by agriculture. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 49(1-3): 221-228.
- Conrad, R. (1996). Soil microorganisms as controllers of atmospheric trace gases (H₂, CO, CH₄, OCS, N₂O, and NO). *Microbiological Reviews* 60(4): 609-+.
- Conrad, R., Seiler, W. and Bunse, G. (1983). Factors influencing the loss of fertilizer nitrogen into the atmosphere as N₂O. *Journal of Geophysical Research-Oceans and Atmospheres* 88(NC11): 6709-6718.
- Cookson, W. R., Cornforth, I. S. and Rowarth, J. S. (2002). Winter soil temperature (2-15 degrees C) effects on nitrogen transformations in clover green manure amended or unamended soils; a laboratory and field study. *Soil Biology & Biochemistry* 34(10): 1401-1415.
- Cruz-Martinez, K., Rosling, A., Zhang, Y., Song, M. Z., Andersen, G. L. and Banfield, J. F. (2012). Effect of Rainfall-Induced Soil Geochemistry Dynamics on Grassland Soil Microbial Communities. *Applied and Environmental Microbiology* 78(21): 7587-7595.
- Cycon, M., Piotrowska-Seget, Z., Kaczynska, A. and Kozdroj, J. (2006). Microbiological characteristics of a sandy loam soil exposed to tebuconazole and lambda-cyhalothrin under laboratory conditions. *Ecotoxicology* 15(8): 639-646.

- Davidson, E. A. (1992). Sources of nitric-oxide and nitrous-oxide following wetting of dry soil. *Soil Science Society of America Journal* 56(1): 95-102.
- Desjardins, R. L., Pattey, E., Smith, W. N., Worth, D., Grant, B., Srinivasan, R., MacPherson, J. I. and Mauder, M. (2010). Multiscale estimates of N₂O emissions from agricultural lands. *Agricultural and Forest Meteorology* 150(6): 817-824.
- Deytieux, V., Nemecek, T., Freiermuth Knuchel, R., Gaillard, G. and Munier-Jolain, N. M. (2012). Is Integrated Weed Management efficient for reducing environmental impacts of cropping systems? A case study based on life cycle assessment. *European Journal of Agronomy* 36(1): 55-65.
- Diosma, G., Aulicino, M., Chidichimo, H. and Balatti, P. A. (2006). Effect of tillage and N fertilization on microbial physiological profile of soils cultivated with wheat. *Soil & Tillage Research* 91(1-2): 236-243.
- Dobbie, K. E., McTaggart, I. P. and Smith, K. A. (1999). Nitrous oxide emissions from intensive agricultural systems: Variations between crops and seasons, key driving variables, and mean emission factors. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* 104(D21): 26891-26899.
- Dobbie, K. E. and Smith, K. A. (2003). Nitrous oxide emission factors for agricultural soils in Great Britain: the impact of soil water-filled pore space and other controlling variables. *Global Change Biology* 9(2): 204-218.
- Dunbabin, V. (2007). Simulating the role of rooting traits in crop-weed competition. *Field Crops Research* 104(1-3): 44-51.
- Ehler, L. E. (2006). Integrated pest management (IPM): definition, historical development and implementation, and the other IPM. *Pest Management Science* 62(9): 787-789.
- Enwall, K., Throback, I. N., Stenberg, M., Soderstrom, M. and Hallin, S. (2010). Soil Resources Influence Spatial Patterns of Denitrifying Communities at Scales Compatible with Land Management. *Applied and Environmental Microbiology* 76(7): 2243-2250.
- Fazzolari, E., Mariotti, A. and Germon, J. C. (1990). Nitrate reduction to ammonia - a dissimilatory process in enterobacter-ammigenus. *Canadian Journal of Microbiology* 36(11): 779-785.
- Feng, Y., Motta, A. C., Reeves, D. W., Burmester, C. H., van Santen, E. and Osborne, J. A. (2003). Soil microbial communities under conventional-till and no-till continuous cotton systems. *Soil Biology & Biochemistry* 35(12): 1693-1703.
- Ferron, P. and Deguine, J. P. (2005). Crop protection, biological control, habitat management and integrated farming. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 25(1): 17-24.
- Flechard, C. R., Ambus, P., Skiba, U., Rees, R. M., Hensen, A., van Amstel, A., Pol-van Dasselaar, A. V., Soussana, J. F., Jones, M., Clifton-Brown, J., Raschi, A., Horvath, L., Neftel, A., Jocher, M., Ammann, C., Leifeld, J., Fuhrer, J., Calanca, P., Thalman, E., Pilegaard, K., Di Marco, C., Campbell, C., Nemitz, E., Hargreaves, K. J., Levy, P. E., Ball, B. C., Jones, S. K., van de Bulk, W. C. M., Groot, T., Blom, M., Domingues, R., Kasper, G., Allard, V., Ceschia, E., Cellier, P., Laville, P., Henault, C., Bizouard, F., Abdalla, M., Williams, M., Baronti, S., Berretti, F. and Grosz, B. (2007). Effects of climate and management intensity on nitrous oxide emissions in grassland systems across Europe. *Agriculture Ecosystems & Environment* 121(1-2): 135-152.
- Flessa, H., Ruser, R., Schilling, R., Loftfield, N., Munch, J. C., Kaiser, E. A. and Beese, F. (2002). N₂O and CH₄ fluxes in potato fields: automated measurement, management effects and temporal variation. *Geoderma* 105(3-4): 307-325.
- Foley, J. A., Ramankutty, N., Brauman, K. A., Cassidy, E. S., Gerber, J. S., Johnston, M., Mueller, N. D., O'Connell, C., Ray, D. K., West, P. C., Balzer, C., Bennett, E. M., Carpenter, S. R., Hill, J., Monfreda, C., Polasky, S., Rockstrom, J., Sheehan, J., Siebert, S., Tilman, D. and Zaks, D. P. M. (2011). Solutions for a cultivated planet. *Nature* 478(7369): 337-342.
- Freibauer, A., Rounsevell, M. D. A., Smith, P. and Verhagen, J. (2004). Carbon sequestration in the agricultural soils of Europe. *Geoderma* 122(1): 1-23.
- Fried, G., Chauvel, B. and Reboud, X. (2009). A functional analysis of large-scale temporal shifts from 1970 to 2000 in weed assemblages of sunflower crops in France. *Journal of Vegetation Science* 20(1): 49-58.
- Frolking, S. E., Mosier, A. R., Ojima, D. S., Li, C., Parton, W. J., Potter, C. S., Priesack, E., Stenger, R., Haberbosch, C., Dorsch, P., Flessa, H. and Smith, K. A. (1998). Comparison of N₂O emissions from soils

- at three temperate agricultural sites: simulations of year-round measurements by four models. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 52(2-3): 77-105.
- Gabrielle, B., Laville, P., Henault, C., Nicoullaud, B. and Germon, J. C. (2006). Simulation of nitrous oxide emissions from wheat-cropped soils using CERES. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 74(2): 133-146.
- Garrido, F., Henault, C., Gaillard, H., Perez, S. and Germon, J. C. (2002). N₂O and NO emissions by agricultural soils with low hydraulic potentials. *Soil Biology & Biochemistry* 34: 559-575.
- Georghiou, G. P. and Lagunes-Tejada, A. (1991). The occurrence of resistance to pesticides in arthropods. An index of cases reported through 1989. Rome, FAO.
- Germida, J. J., Onofriechuk, E. E. and Ewen, A. B. (1987). Effect of nosema-locustae canning (microsporidia) and 3 chemical insecticides on microbial activity in soil. *Canadian Journal of Soil Science* 67(3): 631-637.
- Godfray, H. C. J., Beddington, J. R., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S. M. and Toulmin, C. (2010). Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Science* 327(5967): 812-818.
- Grant, R. F. (1995). Mathematical modelling of nitrous oxide evolution during nitrification. *Soil Biology and Biochemistry* 27(9): 1117-1125.
- Grundmann, G. L. and Rolston, D. E. (1987). A water function approximation to degree of anaerobiosis associated with denitrification. *Soil Science* 144: 437-441.
- Guo, H., Chen, G. F., Lv, Z. P., Zhao, H. and Yang, H. (2009). Alteration of microbial properties and community structure in soils exposed to napropamide. *Journal of Environmental Sciences-China* 21(4): 494-502.
- Halvorson, A. D., Del Grosso, S. J. and Reule, C. A. (2008). Nitrogen, tillage, and crop rotation effects on nitrous oxide emissions from irrigated cropping systems. *Journal of Environmental Quality* 37(4): 1337-1344.
- Harker, K. N. (2013). Slowing weed evolution with integrated weed management. *Canadian Journal of Plant Science* 93(5): 759-764.
- Hart, M. (1995). Effects of pesticides on the soil microbial biomass and microbial activity. PhD Thesis, University of Nottingham.: 210.
- Heap (2013). The international survey of herbicide resistant weeds.
- Helgason, B. L., Walley, F. L. and Germida, J. J. (2010). No-till soil management increases microbial biomass and alters community profiles in soil aggregates. *Applied Soil Ecology* 46(3): 390-397.
- Henault, C., Bizouard, F., Laville, P., Gabrielle, B., Nicoullaud, B., Germon, J. C. and Cellier, P. (2005). Predicting in situ soil N₂O emission using NOE algorithm and soil database. *Global Change Biology* 11(1): 115-127.
- Henault, C., Cheneby, D., Heurlier, K., Garrido, F., Perez, S. and Germon, J. C. (2001). Laboratory kinetics of soil denitrification are useful to discriminate soils with potentially high levels of N₂O emission on the field scale. *Agronomie* 21(8): 713-723.
- Henault, C., Devis, X., Lucas, J. L. and Germon, J. C. (1998). Influence of different agricultural practices (type of crop, form of N-fertilizer) on soil nitrous oxide emissions. *Biology and Fertility of Soils* 27(3): 299-306.
- Henault, C. and Germon, J. C. (2000). NEMIS, a predictive model of denitrification on the field scale. *European Journal of Soil Science* 51(2): 257-270.
- Hénault, C. and Germon, J. C. (1995). Quantification de la dénitrification et des émissions de protoxyde d'azote (N₂O) par les sols. *Agronomie* 15: 321-355.
- Hénault, C., Grossel, A., Mary, B., Roussel, M. and Leonard, J. (2012). Nitrous Oxide Emission by Agricultural Soils: A Review of Spatial and Temporal Variability for Mitigation. *Pedosphere* 22(4): 426-433.
- Henry, S., Bru, D., Stres, B., Hallet, S. and Philippot, L. (2006). Quantitative detection of the nosZ gene, encoding nitrous oxide reductase, and comparison of the abundances of 16S rRNA, narG, nirK, and nosZ genes in soils. *Applied and Environmental Microbiology* 72(8): 5181-5189.

- Hergoualc'h, K., Harmand, J. M., Cannavo, P., Skiba, U., Oliver, R. and Henault, C. (2009). The utility of process-based models for simulating N₂O emissions from soils: A case study based on Costa Rican coffee plantations. *Soil Biology & Biochemistry* 41(11): 2343-2355.
- Hofman, T. and Lees, H. (1953). The biochemistry of the nitrifying organisms. IV. The respiration and intermediary metabolism of *Nitrosomonas*. *The Biochemical journal* 54(4): 579-583.
- Holtan-Hartwig, L., Dorsch, P. and Bakken, L. R. (2002). Low temperature control of soil denitrifying communities: kinetics of N₂O production and reduction. *Soil Biology & Biochemistry* 34(11): 1797-1806.
- IPCC (2001). *Climate Change 2001: The Scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Houghton, J.T., Y. Ding, D.J. Griggs, M. Noguer, P.J. van der Linden, X. Dai, K. Maskell, and C.A. Johnson (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA: 881.
- IPCC (2006). *Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories*. E. H. S. Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme, Buendia L., Miwa K., Ngara T. and Tanabe K. IGES, Japan.
- IPCC (2007). *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor and H.L. Miller (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Jeuffroy, M. H., Baranger, E., Carrouee, B., de Chezelles, E., Gosme, M., Henault, C., Schneider, A. and Cellier, P. (2013). Nitrous oxide emissions from crop rotations including wheat, oilseed rape and dry peas. *Biogeosciences* 10(3): 1787-1797.
- Johnson, J. M. F., Reicosky, D. C., Allmaras, R. R., Sauer, T. J., Venterea, R. T. and Dell, C. J. (2005). Greenhouse gas contributions and mitigation potential of agriculture in the central USA. *Soil & Tillage Research* 83(1): 73-94.
- Jones, S. K., Famulari, D., Di Marco, C. F., Nemitz, E., Skiba, U. M., Rees, R. M. and Sutton, M. A. (2011). Nitrous oxide emissions from managed grassland: a comparison of eddy covariance and static chamber measurements. *Atmospheric Measurement Techniques* 4(10): 2179-2194.
- Kavdir, Y., Hellebrand, H. J. and Kern, J. (2008). Seasonal variations of nitrous oxide emission in relation to nitrogen fertilization and energy crop types in sandy soil. *Soil & Tillage Research* 98(2): 175-186.
- Kesik, M., Blagodatsky, S., Papen, H. and Butterbach-Bahl, K. (2006). Effect of pH, temperature and substrate on N₂O, NO and CO₂ production by *Alcaligenes faecalis* p. *Journal of Applied Microbiology* 101(3): 655-667.
- Kiese, R., Li, C. S., Hilbert, D. W., Papen, H. and Butterbach-Bahl, K. (2005). Regional application of PnET-NDNDC for estimating the N₂O source strength of tropical rainforests in the Wet Tropics of Australia. *Global Change Biology* 11(1): 128-144.
- Kinney, C. A., Mandernack, K. W. and Mosier, A. R. (2005). Laboratory investigations into the effects of the pesticides mancozeb, chlorothalonil, and prosulfuron on nitrous oxide and nitric oxide production in fertilized soil. *Soil Biology & Biochemistry* 37(5): 837-850.
- Knowles, R. (1982). Denitrification. *Microbiological Reviews* 46(1): 43-70.
- Kool, D. M., Dolfing, J., Wrage, N. and Van Groenigen, J. W. (2011). Nitrifier denitrification as a distinct and significant source of nitrous oxide from soil. *Soil Biology & Biochemistry* 43(1): 174-178.
- Kowalchuk, G. A. and Stephen, J. R. (2001). Ammonia-oxidizing bacteria: A model for molecular microbial ecology. *Annual Review of Microbiology* 55: 485-529.
- Kroon, P. S., Hensen, A., Jonker, H. J. J., Zahniser, M. S., van 't Veen, W. H. and Vermeulen, A. T. (2007). Suitability of quantum cascade laser spectroscopy for CH₄ and N₂O eddy covariance flux measurements. *Biogeosciences* 4(5): 715-728.
- Kukreja, K. and Mishra, M. M. (1987). Evaluation of some pesticides as nitrification inhibitors. *Annals of Biology* 3(1): 71-76.
- Labreuche, Lellahi, Malaval and Germon (2011). Impact des techniques culturales sans labour (TCSL) sur le bilan énergétique et le bilan des gaz à effet de serre des systèmes de culture. *Cahiers Agricultures* 20: 204-215.

- Laville, P., Hénault, C., Renault, P., Cellier, P., Oriol, A., Devis, X., Flura, D. and Germon, J. C. (1997). Field comparison of nitrous oxide emission measurements using micrometeorological and chamber methods. *Agronomie* 17(8): 375-388.
- Laville, P., Lehuger, S., Loubet, B., Chaumartin, F. and Cellier, P. (2011). Effect of management, climate and soil conditions on N₂O and NO emissions from an arable crop rotation using high temporal resolution measurements. *Agricultural and Forest Meteorology* 151(2): 228-240.
- Leininger, S., Urich, T., Schlöter, M., Schwark, L., Qi, J., Nicol, G. W., Prosser, J. I., Schuster, S. C. and Schleper, C. (2006). Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. *Nature* 442(7104): 806-809.
- Leip, A., Marchi, G., Koeble, R., Kempen, M., Britz, W. and Li, C. (2008). Linking an economic model for European agriculture with a mechanistic model to estimate nitrogen and carbon losses from arable soils in Europe. *Biogeosciences* 5(1): 73-94.
- Lesschen, J. P., Velthof, G. L., de Vries, W. and Kros, J. (2011). Differentiation of nitrous oxide emission factors for agricultural soils. *Environmental Pollution* 159(11): 3215-3222.
- Li, C. S., Frolking, S. and Frolking, T. A. (1992). A model of nitrous-oxide evolution from soil driven by rainfall events. I. Model structure and sensitivity. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* 97(D9): 9759-9776.
- Li, Y., Chen, D. L., Zhang, Y. M., Edis, R. and Ding, H. (2005). Comparison of three modeling approaches for simulating denitrification and nitrous oxide emissions from loam-textured arable soils. *Global Biogeochemical Cycles* 19(3).
- Lifeng, Z., Boeckx, P., Guanxiong, C. and Van Cleemput, O. (2000). Nitrous oxide emission from herbicide-treated soybean. *Biology and Fertility of Soils* 32(2): 173-176.
- Linn, D. M. and Doran, J. W. (1984). Effect of water-filled pore space on carbon-dioxide and nitrous-oxide production in tilled and nontilled soils. *Soil Science Society of America Journal* 48(6): 1267-1272.
- Llewellyn, R. S., Lindner, R. K., Pannell, D. J. and Powles, S. B. (2004). Grain grower perceptions and use of integrated weed management. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 44(10): 993-1001.
- Loftfield, N. S., Brumme, R. and Beese, F. (1992). Automated Monitoring of Nitrous Oxide and Carbon Dioxide Flux from Forest Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56(4): 1147-1150.
- Lu, Z. M., Deng, Y., Van Nostrand, J. D., He, Z. L., Voordeckers, J., Zhou, A. F., Lee, Y. J., Mason, O. U., Dubinsky, E. A., Chavarria, K. L., Tom, L. M., Fortney, J. L., Lamendella, R., Jansson, J. K., D'Haeseleer, P., Hazen, T. C. and Zhou, J. Z. (2012). Microbial gene functions enriched in the Deepwater Horizon deep-sea oil plume. *ISME Journal* 6(2): 451-460.
- Lupwayi, N. Z., Harker, K. N., Dosdall, L. M., Turkington, T. K., Blackshaw, R. E., O'Donovan, J. T., Carcamo, H. A., Otani, J. K. and Clayton, G. W. (2009). Changes in functional structure of soil bacterial communities due to fungicide and insecticide applications in canola. *Agriculture Ecosystems & Environment* 130(3-4): 109-114.
- Maag, M. and Vinther, F. P. (1996). Nitrous oxide emission by nitrification and denitrification in different soil types and at different soil moisture contents and temperatures. *Applied Soil Ecology* 4(1): 5-14.
- MacKenzie, A. F., Fan, M. X. and Cadrin, F. (1997). Nitrous oxide emission as affected by tillage, corn-soybean-alfalfa rotations and nitrogen fertilization. *Canadian Journal of Soil Science* 77(2): 145-152.
- Mahne, I. and Tiedje, J. M. (1995). Criteria and methodology for identifying respiratory denitrifiers. *Applied and Environmental Microbiology* 61(3): 1110-1115.
- Marchetti, R., Donatelli, M. and Spallacci, P. (1997). Testing denitrification functions of dynamic crop models. *Journal of Environmental Quality* 26(2): 394-401.
- Marshall, E. J. P., Brown, V. K., Boatman, N. D., Lutman, P. J. W., Squire, G. R. and Ward, L. K. (2003). The role of weeds in supporting biological diversity within crop fields. *Weed Research* 43(2): 77-89.
- Mathieu, O. (2005). Application du traçage isotopique 15N à l'étude du protoxyde d'azote (N₂O), gaz à effet de serre produit par l'activité microbienne des sols. Quantification des flux et approche spatiale au terrain. Thèse de doctorat. Université de Bourgogne, : 247.

- Mathieu, O., Leveque, J., Henault, C., Milloux, M. J., Bizouard, F. and Andreux, F. (2006a). Emissions and spatial variability of N_2O , N_2 and nitrous oxide mole fraction at the field scale, revealed with $15N$ isotopic techniques. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 941-951.
- Mathieu, O., Henault, C., Leveque, J., Baujard, E., Milloux, M. J. and Andreux, F. (2006b). Quantifying the contribution of nitrification and denitrification to the nitrous oxide flux using $N-15$ tracers. *Environmental Pollution* 144(3): 933-940.
- Matson, P. A., Parton, W. J., Power, A. G. and Swift, M. J. (1997). Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science* 277(5325): 504-509.
- Medeiros, P. M., Fernandes, M. F., Dick, R. P. and Simoneit, B. R. T. (2006). Seasonal variations in sugar contents and microbial community in a ryegrass soil. *Chemosphere* 65(5): 832-839.
- Melander, B., Rasmussen, I. A. and Barberi, P. (2005). Integrating physical and cultural methods of weed control - Examples from European research. *Weed Science* 53(3): 369-381.
- Mertens, J., Broos, K., Wakelin, S. A., Kowalchuk, G. A., Springael, D. and Smolders, E. (2009). Bacteria, not archaea, restore nitrification in a zinc-contaminated soil. *Isme Journal* 3(8): 916-923.
- Miehle, P., Livesley, S. J., Feikema, P. M., Li, C. and Arndt, S. K. (2006). Assessing productivity and carbon sequestration capacity of Eucalyptus globulus plantations using the process model forest-DNDC: Calibration and validation. *Ecological Modelling* 192(1-2): 83-94.
- Mosier, A. R., Duxbury, J. M., Freney, J. R., Heinemeyer, O. and Minami, K. (1996). Nitrous oxide emissions from agricultural fields: Assessment, measurement and mitigation. *Plant and Soil* 181(1): 95-108.
- Mrazek, Y., Kondratenko, V. I. and Islamov, S. S. (1984). Effect of herbicides on activity of microbiological processes in a chernozem soil. *Khimiya v Sel'skom Khozyaistve*(12): 49.
- Munier-Jolain, N. and Dongmo Ngoutsop, A. L. (2010). Evaluation de la faisabilité technique de systèmes de Protection Intégrée en termes de fonctionnement d'exploitation et d'organisation du travail. Comment adapter les solutions aux conditions locales ? *Innovations Agronomiques* 8: 57-67.
- Munier-Jolain, N. M., Deytieux, V., Guillemain, J. P., Granger, S. and Gaba, S. (2009). Multi-criteria evaluation of cropping systems prototypes based on integrated weed management.
- Nicolardot, B. and Germon, J. C. (2008). Émissions de méthane (CH_4) et d'oxydes d'azote (N_2O et NO_x) par les sols cultivés : aspects généraux et effet du non travail du sol. *Etudes et Gestion des Sols*. 15: 171-182.
- Nishimura, S., Sudo, S., Akiyama, H., Yonemura, S., Yagi, K. and Tsuruta, H. (2005). Development of a system for simultaneous and continuous measurement of carbon dioxide, methane and nitrous oxide fluxes from croplands based on the automated closed chamber method. *Soil Science and Plant Nutrition* 51(4): 557-564.
- Novinscak, A., Goyer, C., Dandie, C. E. and Filion, M. (2012). Abundance, diversity and spatio-temporal dynamics of nirS gene-harboursing denitrifiers in a potato field over the course of a growth season. *Systematic and Applied Microbiology* (0).
- Novoa, R. S. A. and Tejeda, H. R. (2006). Evaluation of the N_2O emissions from N in plant residues as affected by environmental and management factors. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 75(1-3): 29-46.
- Oerke, E. C. (2006). Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science* 144: 31-43.
- Oerke, E. C., Dehne, H. W., Schonbeck, F. and Weber, A. (1994). Crop production and crop protection: estimated losses in major food and cash crops. Amsterdam, Netherlands, Elsevier Science Publishers.
- Olesen, J. E., Petersen, B. M., Berntsen, J., Hansen, S., Jamieson, P. D. and Thomsen, A. G. (2002). Comparison of methods for simulating effects of nitrogen on green area index and dry matter growth in winter wheat. *Field Crops Research* 74(2-3): 131-149.
- Olesen, J. E., Petersen, B. M., Berntsen, J., Hansen, S., Jamieson, P. D. and Thomsen, A. G. (2002). Comparison of methods for simulating effects of nitrogen on green area index and dry matter growth in winter wheat. *Field Crops Research* 74(2-3): 131-149.
- Ollivier, J., Schacht, D., Kindler, R., Groeneweg, J., Engel, M., Wilke, B., Kleinedam, K. and Schlöter, M. (2013). Effects of repeated application of sulfadiazine-contaminated pig manure on the abundance and diversity of ammonia and nitrite oxidizers in the root-rhizosphere complex of pasture plants under field conditions. *Frontiers in Microbiology* 4.

- Olorunmaiye, P. M. (2011). Economic viability of integrated weed management in maize/cassava intercrop in Guinea savanna ecology of Nigeria. *Agriculture and Biology Journal of North America* 2(3): 522-528.
- Oorts, K., Merckx, R., Grehan, E., Labreuche, J. and Nicolardot, B. (2007). Determinants of annual fluxes of CO₂ and N₂O in long-term no-tillage and conventional tillage systems in northern France. *Soil & Tillage Research* 95(1-2): 133-148.
- Otte, S., Schalk, J., Kuenen, J. G. and Jetten, M. S. M. (1999). Hydroxylamine oxidation and subsequent nitrous oxide production by the heterotrophic ammonia oxidizer *Alcaligenes faecalis*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 51(2): 255-261.
- Page, E. R., Tollenaar, M., Lee, E. A., Lukens, L. and Swanton, C. J. (2010). Shade avoidance: an integral component of crop-weed competition. *Weed Research* 50(4): 281-288.
- Pape, L., Ammann, C., Nyfeler-Brunner, A., Spirig, C., Hens, K. and Meixner, F. X. (2009). An automated dynamic chamber system for surface exchange measurement of non-reactive and reactive trace gases of grassland ecosystems. *Biogeosciences* 6(3): 405-429.
- Pardo, G., Riravololona, M. and Munier-Jolain, N. M. (2010). Using a farming system model to evaluate cropping system prototypes: Are labour constraints and economic performances hampering the adoption of Integrated Weed Management? *European Journal of Agronomy* 33(1): 24-32.
- Pardo, G., Riravololona, M. J., Petit, M. S., Farcy, P. and Munier-Jolain, N. (2008). Effects of integrated weed control on labour organization and economic profitability of farms. *ITEA-Informacion Tecnica Economica Agraria* 104(4): 448-471.
- Parkin, T. B. (1987). Soil microsites as a source of Denitrification Variability. *Soil Sci. Soc. Am.* 51: 1194-1199.
- Parkin, T. B. and Venterea, R. T. (2010). Chapter 3. Chamber-Based Trace Gas Flux Measurements. Appendix III. In *Sampling Protocols*. R. F. Follett: 1-39.
- Parton, W. J., Holland, E. A., Del Grosso, S. J., Hartman, M. D., Martin, R. E., Mosier, A. R., Ojima, D. S. and Schimel, D. S. (2001). Generalized model for NO_x and N₂O emissions from soils. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* 106(D15): 17403-17419.
- Pattey, E., Edwards, G. C., Desjardins, R. L., Pennock, D. J., Smith, W., Grant, B. and MacPherson, J. I. (2007). Tools for quantifying N₂O emissions from agroecosystems. *Agricultural and Forest Meteorology* 142(2-4): 103-119.
- Paustian, K., Andren, O., Janzen, H. H., Lal, R., Smith, P., Tian, G., Tiessen, H., Van Noordwijk, M. and Woerner, P. L. (1997). Agricultural soils as a sink to mitigate CO₂ emissions. *Soil Use and Management* 13(4): 230-244.
- Pedersen, H., Dunkin, K. A. and Firestone, M. K. (1999). The relative importance of autotrophic and heterotrophic nitrification in a conifer forest soil as measured by N-15 tracer and pool dilution techniques. *Biogeochemistry* 44(2): 135-150.
- Petit -Jean, C. (2013). Mesures in situ et simulations des flux de N₂O. Cas du changement d'usage des terres en Guyane : déforestation par la méthode 'chop-and mulch' suivi de la mise en valeur agricole. Université des Antilles et de la Guyane.
- Petit, S., Boursault, A., Guilloux, M., Munier-Jolain, N. and Reboud, X. (2011). Weeds in agricultural landscapes. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 31(2): 309-317.
- Petric, I., Philippot, L., Abbate, C., Bispo, A., Chesnot, T., Hallin, S., Laval, K., Lebeau, T., Lemanceau, P., Leyval, C., Lindström, K., Pandard, P., Romero, E., Sarr, A., Schlöter, M., Simonet, P., Smalla, K., Wilke, B. M. and Martin-Laurent, F. (2011). Inter-laboratory evaluation of the ISO standard 11063 "Soil quality — Method to directly extract DNA from soil samples". *Journal of Microbiological Methods* 84(3): 454-460.
- Philippot, L., Andert, J., Jones, C. M., Bru, D. and Hallin, S. (2011). Importance of denitrifiers lacking the genes encoding the nitrous oxide reductase for N₂O emissions from soil. *Global Change Biology* 17(3): 1497-1504.
- Philippot, L. and Germon, J. (2005). Contribution of bacteria to initial input and cycling of nitrogen in soils. *Microorganisms in soils: roles in genesis and functions*, Springer Berlin Heidelberg: 159-176.
- Pietikainen, J., Pettersson, M. and Baath, E. (2005). Comparison of temperature effects on soil respiration and bacterial and fungal growth rates. *Fems Microbiology Ecology* 52(1): 49-58.

- Popp, J., Peto, K. and Nagy, J. (2013). Pesticide productivity and food security. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 33(1): 243-255.
- Potter, C. S., Matson, P. A., Vitousek, P. M. and Davidson, E. A. (1996). Process modeling of controls on nitrogen trace gas emissions from soils worldwide. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* 101(D1): 1361-1377.
- Prather, T. S., Ditomasso, J. M. and Holt, J. S. (2000). *Herbicide Resistance: Definition and Management Strategies*. University of California Division of Agriculture and Natural Resources.
- Puglisi, E., Vasileiadis, S., Demiris, K., Bassi, D., Karpouzas, D. G., Capri, E., Cocconcelli, P. S. and Trevisan, M. (2012). Impact of Fungicides on the Diversity and Function of Non-target Ammonia-Oxidizing Microorganisms Residing in a Litter Soil Cover. *Microbial ecology* 64(3): 692-701.
- Rafique, R., Peichl, M., Hennessy, D. and Kiely, G. (2011). Evaluating management effects on nitrous oxide emissions from grasslands using the process-based DeNitrification-DeComposition (DNDC) model. *Atmospheric Environment* 45(33): 6029-6039.
- Ravishankara, A. R., Daniel, J. S. and Portmann, R. W. (2009). Nitrous Oxide (N₂O): The Dominant Ozone-Depleting Substance Emitted in the 21st Century. *Science* 326(5949): 123-125.
- RCoreTeam (2012). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Regan, K., Kammann, C., Hartung, K., Lenhart, K., Muller, C., Philippot, L., Kandeler, E. and Marhan, S. (2011). Can differences in microbial abundances help explain enhanced N₂O emissions in a permanent grassland under elevated atmospheric CO₂? *Global Change Biology* 17(10): 3176-3186.
- Reganold, J. P., Glover, J. D., Andrews, P. K. and Hinman, H. R. (2001). Sustainability of three apple production systems. *Nature* 410(6831): 926-930.
- Reichman, R. and Rolston, D. E. (2002). Design and performance of a dynamic gas flux chamber. *Journal of Environmental Quality* 31(6): 1774-1781.
- Riley, W. J. and Matson, P. A. (2000). NLOSS: A mechanistic model of denitrified N₂O and N₂ evolution from soil. *Soil Science* 165(3): 237-249.
- Ritchie, G. A. and Nicholas, D. J. (1972). Identification of the sources of nitrous oxide produced by oxidative and reductive processes in *Nitrosomonas europaea*. *The Biochemical journal* 126(5): 1181-1191.
- Ritz, K., Black, H. I. J., Campbell, C. D., Harris, J. A. and Wood, C. (2009). Selecting biological indicators for monitoring soils: A framework for balancing scientific and technical opinion to assist policy development. *Ecological Indicators* 9(6): 1212-1221.
- Robertson, G. (1989). *Nitrification and denitrification in humid tropical ecosystems: Potential controls on nitrogen retention. Mineral Nutrients in Tropical Forest and Savanna Ecosystems*, Blackwell Scientific: 55-69.
- Robertson, G. and Groffman, P. (2007). *Nitrogen transformations. Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*, Academic Press: 341-364.
- Rochette, P. (2011). Towards a standard non-steady-state chamber methodology for measuring soil N₂O emissions. *Animal Feed Science and Technology* 166-67: 141-146.
- Rochette, P., Angers, D. A., Belanger, G., Chantigny, M. H., Prevost, D. and Levesque, G. (2004). Emissions of N₂O from alfalfa and soybean crops in eastern Canada. *Soil Science Society of America Journal* 68(2): 493-506.
- Rochette, P. and Bertrand, N. (2003). Soil air sample storage and handling using polypropylene syringes and glass vials. *Canadian Journal of Soil Science* 83(5): 631-637.
- Ruegg, W. T., Quadranti, M. and Zoschke, A. (2007). Herbicide research and development: challenges and opportunities. *Weed Research* 47(4): 271-275.
- Ruser, R., Flessa, H., Russow, R., Schmidt, G., Buegger, F. and Munch, J. C. (2006). Emission of N₂O, N₂ and CO₂ from soil fertilized with nitrate: Effect of compaction, soil moisture and rewetting. *Soil Biology & Biochemistry* 38(2): 263-274.

- Ruser, R., Flessa, H., Schilling, R., Beese, F. and Munch, J. C. (2001). Effect of crop-specific field management and N fertilization on N₂O emissions from a fine-loamy soil. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 59(2): 177-191.
- Rütting, T., Boeckx, P., Müller, C. and Klemetsson, L. (2011). Assessment of the importance of dissimilatory nitrate reduction to ammonium for the terrestrial nitrogen cycle. *Biogeosciences* 8(7): 1779-1791.
- Sadok, W., Angevin, F., Bergez, J.-E., Bockstaller, C., Colomb, B., Guichard, L., Reau, R., Messéan, A. and Doré, T. (2009). MASC, a qualitative multi-attribute decision model for ex ante assessment of the sustainability of cropping systems. *Agron. Sustain. Dev.* 29(3): 447-461.
- Saggar, S., Giltrap, D. L., Li, C. and Tate, K. R. (2007). Modelling nitrous oxide emissions from grazed grasslands in New Zealand. *Agriculture Ecosystems & Environment* 119(1-2): 205-216.
- Schaufler, G., Kitzler, B., Schindlbacher, A., Skiba, U., Sutton, M. A. and Zechmeister-Boltenstern, S. (2010). Greenhouse gas emissions from European soils under different land use: effects of soil moisture and temperature. *European Journal of Soil Science* 61(5): 683-696.
- Schaufler, G., Kitzler, B., Schindlbacher, A., Skiba, U., Sutton, M. A. and Zechmeister-Boltenstern, S. (2010). Greenhouse gas emissions from European soils under different land use: effects of soil moisture and temperature. *European Journal of Soil Science* 61(5): 683-696.
- Schütz, H., Holzapfel-Pschorn, A., Conrad, R., Rennenberg, H. and Seiler, W. (1989). A 3-year continuous record on the influence of daytime, season, and fertilizer treatment on methane emission rates from an Italian rice paddy. *J. Geophys. Res.* 94(D(13)): 16405-16416.
- Sebillote, M. (1975). Comment aborder et suivre l'introduction dans un système de culture de nouveaux procédés de travail du sol ? *Bull. Tech. Inf. Bulletin technique d'information*(302-303): 555-567.
- Silver, W. L., Herman, D. J. and Firestone, M. K. (2001). Dissimilatory Nitrate reduction to ammonium in upland tropical forest soils. *Ecology* 82(9): 2410-2416.
- Simek, M. (2000). Nitrification in soil - Terminology and methodology (review). *Rostlinna Vyroba* 46(9): 385-395.
- Six, J., Feller, C., Deneff, K., Ogle, S. M., Sa, J. C. D. and Albrecht, A. (2002). Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils - Effects of no-tillage. *Agronomie* 22(7-8): 755-775.
- Six, J., Ogle, S. M., Breidt, F. J., Conant, R. T., Mosier, A. R. and Paustian, K. (2004). The potential to mitigate global warming with no-tillage management is only realized when practised in the long term. *Global Change Biology* 10(2): 155-160.
- Skiba, U. and Smith, K. A. (2000). The control of nitrous oxide emissions from agricultural and natural soils. *Chemosphere - Global Change Science* 2(3-4): 379-386.
- Smith, C. M. (1988). History of benzimidazole use and resistance. *Fungicide Resistance in North America*. St. Paul, MN: 23-24.
- Smith, E. G., Upadhyay, B. M., Blackshaw, R. E., Beckie, H. J., Harker, K. N. and Clayton, G. W. (2006). Economic benefits of integrated weed management systems for field crops in the Dark Brown and Black soil zones of western Canada. *Canadian Journal of Plant Science* 86(4): 1273-1279.
- Smith, J., Smith, P. and Addiscott, T. (1996). Quantitative methods to evaluate and compare Soil Organic Matter (SOM) Models. *Evaluation of Soil Organic Matter Models*. D. Powlson, P. Smith and J. Smith, Springer Berlin Heidelberg. 38: 181-199.
- Smith, K. A. and Conen, F. (2004). Impacts of land management on fluxes of trace greenhouse gases. *Soil Use and Management* 20: 255-263.
- Smith, W. N., Desjardins, R. L., Grant, B., Li, C., Lemke, R., Rochette, P., Corre, M. D. and Pennock, D. (2002). Testing the DNDC model using N₂O emissions at two experimental sites in Canada. *Canadian Journal of Soil Science* 82(3): 365-374.
- Somda, Z. C., Phatak, S. C. and Mills, H. A. (1991). Influence of biocides on tomato nitrogen uptake and soil nitrification and denitrification. *Journal of Plant Nutrition* 14(11): 1187-1199.
- Starkenburg, S. R., Chain, P. S. G., Sayavedra-Soto, L. A., Hauser, L., Land, M. L., Larimer, F. W., Malfatti, S. A., Klotz, M. G., Bottomley, P. J., Arp, D. J. and Hickey, W. J. (2006). Genome Sequence of the

- Chemolithoautotrophic Nitrite-Oxidizing Bacterium *Nitrobacter winogradskyi* Nb-255. *Applied and Environmental Microbiology* 72(3): 2050-2063.
- Stehfest, E. and Bouwman, L. (2006). N₂O and NO emission from agricultural fields and soils under natural vegetation: summarizing available measurement data and modeling of global annual emissions. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 74(3): 207-228.
- Stern, V. M., Smith, R. F., Van Den Bosch, K. and Ragen, K. S. (1959). The integration of chemical and biological control of the spotted alfalfa aphid: the integrated control concept. *Hilgardia* 29: 81-101.
- Stoate, C., Boatman, N. D., Borralho, R. J., Carvalho, C. R., de Snoo, G. R. and Eden, P. (2001). Ecological impacts of arable intensification in Europe. *Journal of Environmental Management* 63(4): 337-365.
- Swanton, C. J. and Weise, S. F. (1991). Integrated weed management - the rationale and approach. *Weed Technology* 5(3): 657-663.
- Syakila, A. and Kroeze, C. (2011). The global nitrous oxide budget revisited. *Greenhouse Gas Measurement and Management* 1(1): 17-26.
- Tavares, P., Pereira, A. S., Moura, J. J. G. and Moura, I. (2006). Metalloenzymes of the denitrification pathway. *Journal of Inorganic Biochemistry* 100(12): 2087-2100.
- Thill, D. C., Lish, J. M., Callihan, R. H. and Bechinski, E. J. (1991). Integrated weed management - a component of integrated pest-mangement - a critical review. *Weed Technology* 5(3): 648-656.
- Tourna, M., Freitag, T. E., Nicol, G. W. and Prosser, J. I. (2008). Growth, activity and temperature responses of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in soil microcosms. *Environmental Microbiology* 10(5): 1357-1364.
- UNEP (2013). Drawing Down N₂O to Protect Climate and the Ozone Layer. A UNEP Synthesis Report. U. N. E. P. (UNEP). Nairobi, Kenya.
- Van Cleemput, O. (1998). Subsoils: chemo-and biological denitrification, N₂O and N₂ emissions. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 52(2-3): 187-194.
- Van Groenigen, J. W., Velthof, G. L., Oenema, O., Van Groenigen, K. J. and Van Kessel, C. (2010). Towards an agronomic assessment of N₂O emissions: a case study for arable crops. *European Journal of Soil Science* 61(6): 903-913.
- Velthof, G. L., Kuikman, P. J. and Oenema, O. (2002). Nitrous oxide emission from soils amended with crop residues. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 62(3): 249-261.
- Vermue, A., Philippot, L., Munier-Jolain, N., Hénault, C. and Nicolardot, B. (2013). Influence of integrated weed managementsystem on N-cycling microbial communitiesand N₂O emissions. *Plant Soil* 368(1-2).
- Vieten, B., Conen, F., Seth, B. and Alewell, C. (2008). The fate of N₂O consumed in soils. *Biogeosciences* 5(1): 129-132.
- Vilain, G., Garnier, J., Tallec, G. and Cellier, P. (2010). Effect of slope position and land use on nitrous oxide (N₂O) emissions (Seine Basin, France). *Agricultural and Forest Meteorology* 150(9): 1192-1202.
- Vitousek, P. M., Aber, J. D., Howarth, R. W., Likens, G. E., Matson, P. A., Schindler, D. W., Schlesinger, W. H. and Tilman, D. (1997). Human alteration of the global nitrogen cycle: Sources and consequences. *Ecological Applications* 7(3): 737-750.
- Wagner-Riddle, C., Furon, A., McLaughlin, N. L., Lee, I., Barbeau, J., Jayasundara, S., Parkin, G., Von Bertoldi, P. and Warland, J. (2007). Intensive measurement of nitrous oxide emissions from a corn-soybean-wheat rotation under two contrasting management systems over 5 years. *Global Change Biology* 13(8): 1722-1736.
- WagnerRiddle, C., Thurtell, G. W., Kidd, G. K., Beauchamp, E. G. and Sweetman, R. (1997). Estimates of nitrous oxide emissions from agricultural fields over 28 months. *Canadian Journal of Soil Science* 77(2): 135-144.
- Wang, K., Zheng, X. H., Pihlatie, M., Vesala, T., Liu, C. Y., Haapanala, S., Mammarella, I., Rannik, U. and Liu, H. Z. (2013). Comparison between static chamber and tunable diode laser-based eddy covariance techniques for measuring nitrous oxide fluxes from a cotton field. *Agricultural and Forest Meteorology* 171: 9-19.

- Way, M. J. and van Emden, H. F. (2000). Integrated pest management in practice - pathways towards successful application. *Crop Protection* 19(2): 81-103.
- Weier, K. L., Doran, J. W., Power, J. F. and Walters, D. T. (1993). Denitrification and the Dinitrogen/Nitrous Oxide ratio as affected by Soil Water, available Carbon and Nitrates. *Soil Sci. Soc. Am.* 57: 66-72.
- Weitz, A. M., Linder, E., Frolking, S., Crill, P. M. and Keller, M. (2001). N₂O emissions from humid tropical agricultural soils : effects of soil moisture, texture and nitrogen availability. 33(7-8).
- Well, R., Augustin, J., Meyer, K. and Myrold, D. D. (2003). Comparison of field and laboratory measurement of denitrification and N₂O production in the saturated zone of hydromorphic soils. *Soil Biology & Biochemistry* 35(6): 783-799.
- Wessen, E. and Hallin, S. (2011). Abundance of archaeal and bacterial ammonia oxidizers - Possible bioindicator for soil monitoring. *Ecological Indicators* 11(6): 1696-1698.
- Wessen, E., Soderstrom, M., Stenberg, M., Bru, D., Hellman, M., Welsh, A., Thomsen, F., Klemetson, L., Philippot, L. and Hallin, S. (2011). Spatial distribution of ammonia-oxidizing bacteria and archaea across a 44-hectare farm related to ecosystem functioning. *Isme Journal* 5(7): 1213-1225.
- West, T. O. and Post, W. M. (2002). Soil organic carbon sequestration rates by tillage and crop rotation: A global data analysis. *Soil Science Society of America Journal* 66(6): 1930-1946.
- Wrage, N., Velthof, G. L., van Beusichem, M. L. and Oenema, O. (2001). Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide. *Soil Biology & Biochemistry* 33(12-13): 1723-1732.
- Yamulki, S. and Jarvis, S. C. (1999). Automated chamber technique for gaseous flux measurements: Evaluation of a photoacoustic infrared spectrometer-trace gas analyzer. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* 104(D5): 5463-5469.
- Ying, J. Y., Zhang, L. M. and He, J. Z. (2010). Putative ammonia-oxidizing bacteria and archaea in an acidic red soil with different land utilization patterns. *Environmental Microbiology Reports* 2(2): 304-312.
- Yoshida, T. and Alexander, M. (1970). Nitrous oxide formation by nitrosomonas europaea and heterotrophic microorganisms. *Soil Science Society of America* 34: 880-882.
- Zhang, L. M., Offre, P. R., He, J. Z., Verhamme, D. T., Nicol, G. W. and Prosser, J. I. (2010). Autotrophic ammonia oxidation by soil thaumarchaea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107(40): 17240-17245.
- Zhu, T. B., Zhang, J. B. and Cai, Z. C. (2011). The contribution of nitrogen transformation processes to total N₂O emissions from soils used for intensive vegetable cultivation. *Plant and Soil* 343(1-2): 313-327.
- Zoschke, A. and Quadranti, M. (2002). Integrated weed management: Quo vadis? *Weed Biology and Management* 2(1): 1-10.

Anthony VERMUE

27 ans,







Permis B

✉ 6 B rue Edgar Quinet 21000 Dijon

💻 anthony.vermue@gmail.com

☎ +33 (0)6 74 18 76 70

Expériences professionnelles et thématiques de recherche

2010 2013	Thèse AgroSup Dijon – UMR Agroécologie	
3 ans	 Contribution à l'évaluation multicritère des systèmes de culture en protection intégrée contre les adventices: Cas des émissions de protoxyde d'azote , sous la direction de B. Nicolardot ¹ et C. Hénault ² . 	<ul style="list-style-type: none">■ Évaluation de l'intensité des émissions de N_2O sur quatre systèmes de culture à l'aide d'un dispositif de mesure infrarouge en continu. Estimation de l'effet des pratiques agricoles sur les émissions et identification des facteurs de régulation.■ Caractérisation de la taille des communautés microbiennes, de leur régulation par les pratiques agricoles et des conséquences sur les émissions de N_2O.■ Modélisation des émissions de N_2O à l'aide de deux modèles : NOE et DNDC. Évaluation de la performance des modèles et analyse des émissions de N_2O.
2010	Main d'œuvre occasionnelle à l'INRA de Dijon – UMR MSE	
2 mois	 Comparaison des émissions de N_2O par dénitrification après récolte d'une céréale et d'une légumineuse , sous la direction de C. Hénault ² .	<ul style="list-style-type: none">■ Prélèvement d'échantillons de sols non déstructurés et estimation de l'intensité des émissions de N_2O■ Dosage des concentrations en N_2O par chromatographie en phase gazeuse.■ Extraction d'azote minéral du sol et dosage par spectrophotométrie
2010	Stage à l'INRA Dijon – UMR MSE et l'INRA de Kourou – UMR ECOFOG	
6 mois	 Étude de la dénitrification et des émissions de N_2O par les sols agricoles tropicaux après déforestation en Guyane Française , sous la direction de C. Hénault ² et J. C. Roggy ³ .	<ul style="list-style-type: none">■ Estimation de la capacité des sols à réduire le N_2O■ Prélèvement d'échantillons de sols non déstructurés et estimation du potentiel de dénitrification des sols.■ Dosage des concentrations en N_2O par chromatographie en phase gazeuse.
2009	Main d'œuvre occasionnelle à l'INRA de Dijon – UMR MSE	
2 semaines	 Estimation de la capacité des sols à réduire le protoxyde d'azote , sous la direction de C. Hénault ² .	<ul style="list-style-type: none">■ Estimation de la capacité des sols à réduire le N_2O■ Dosage des concentrations en N_2O par chromatographie en phase gazeuse.
2009	Stage à l'INRA Dijon – UMR MSE	
3 mois	 Élaboration d'un jeu de donnée de vitesses de dénitrification potentielle à partir de plusieurs parcelles agricoles , sous la direction de C. Hénault ² .	<ul style="list-style-type: none">■ Prélèvement d'échantillons de sol non déstructurés et estimation du potentiel de dénitrification des sols.■ Dosage des concentrations en N_2O par chromatographie en phase gazeuse.

Diplômes et formations

[2010 – 2014] Doctorat en Science de la terre [Université de Bourgogne] [En cours]

- École Technique : **Analyse des gaz 2011**
- Formation doctorale: Conduite de projet et gestion d'équipe, R, Anglais

[2009 – 2010] Master 2 Recherche Géobiosphère [Université de Bourgogne] [AB]

- Initiation à la recherche : Étude de la **variabilité spatiale et temporelle** des concentrations en **CO₂** et des températures à l'échelle du campus, avec interpolation par **système d'information géographique**, sous la direction de J. Lévêque⁴ et O. Mathieu⁵.

[2008 – 2009] Master 1 Science de l'environnement [Université de Bourgogne] [AB]

- Initiation à la recherche : Étude de l'impact de différents types d'apports en **matière organique** sur les émissions de **N₂O** par les sols, sous la direction d'O. Mathieu⁵.

[2004 – 2008] Licence Sciences de la terre et de l'environnement [Université de Bourgogne] [P]

[2003 – 2004] Baccalauréat scientifique [Joigny] [P]

Compétences pratiques

[Langues] Français : Langue maternelle; Anglais : lu, écrit, parlé ; notion d'Espagnol.

[Informatique] Office, Illustrator, Arcgis, R, Xlstat, Endnote, Galaxy.

Références

¹ **Bernard Nicolardot**, 03 80 77 23 48, bernard.nicolardot@agrosupdijon.fr

AgroSup Dijon, UMR 1347, Agroécologie, 26 rue Dr Petitjean, BP 87999, 21079 Dijon cedex.

² **Catherine Hénault**, 02 38 41 78 45, catherine.henault@orleans.inra.fr

INRA, UR 0272, Science du Sol, 2163 Avenue de la Pomme de Pin, CS 40001, 45075 Orléans cedex 2.

³ **Jean Christophe Roggy**, 05 94 32 92 92, jean-christophe.roggy@ecofog.gf

INRA, UMR 8172, EcoFoG, Campus agronomique, BP 316, 97379 Kourou cedex.

⁴ **Jean Lévêque**, 03 80 39 63 63, jean.leveque@u-bourgogne.fr

Université de Bourgogne, UMR 6282, Biogéosciences, 6 bd Gabriel, 21000 Dijon, France

⁵ **Olivier Mathieu**, 03 80 39 91 26, olivier.mathieu@u-bourgogne.fr

Université de Bourgogne, UMR 6282, Biogéosciences, 6 bd Gabriel, 21000 Dijon, France